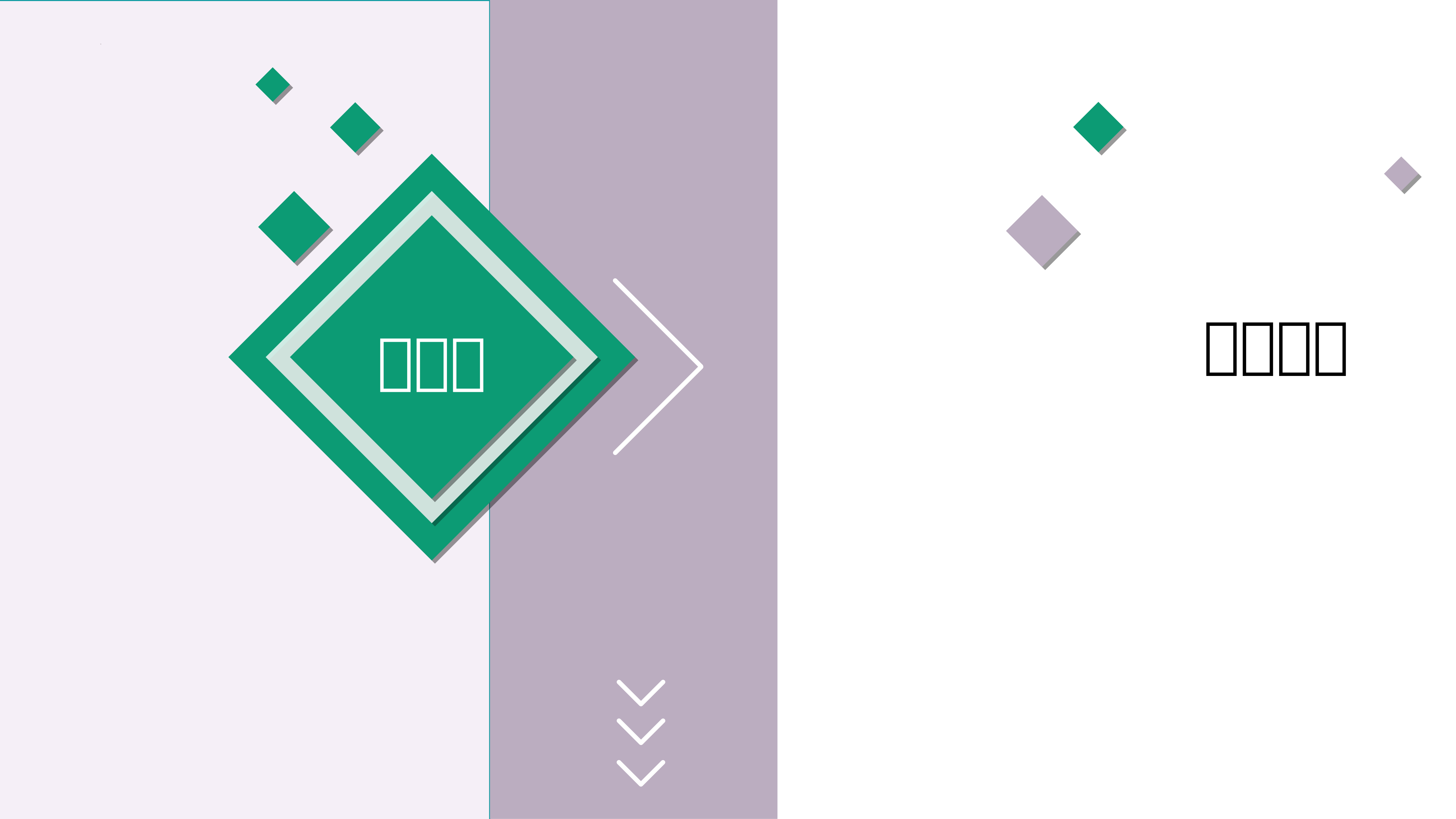
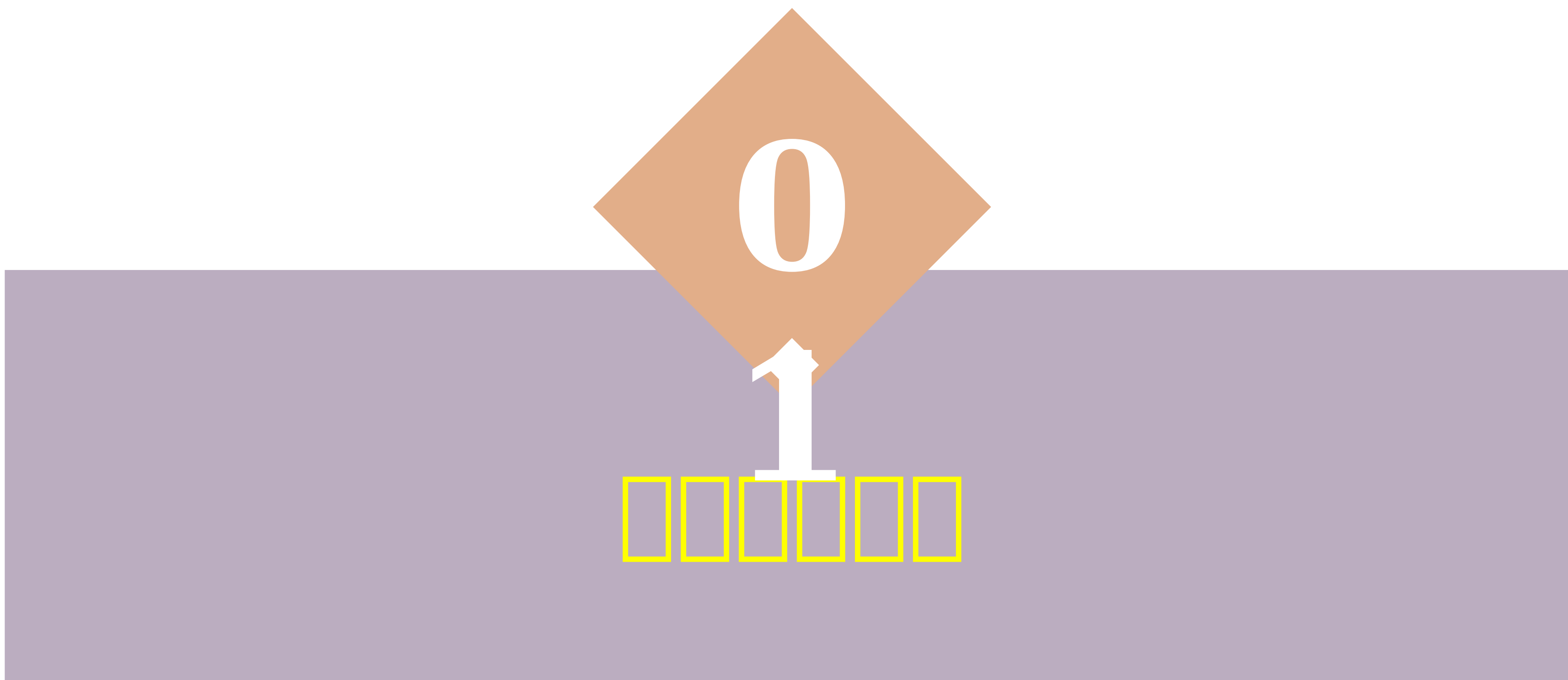


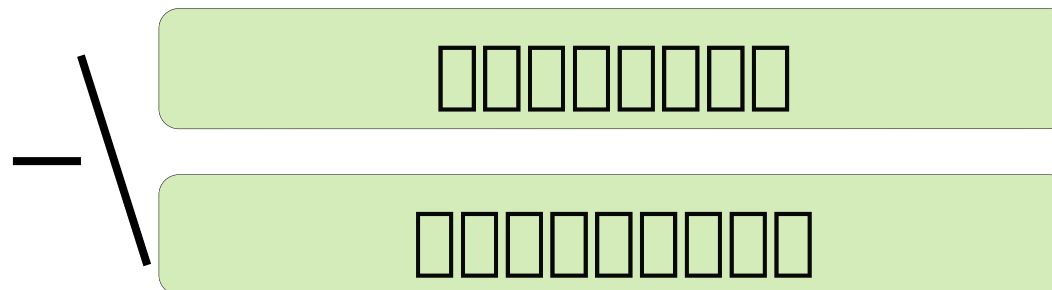
1. 细胞工程

原理和方法	细胞生物学、分子生物学和发育生物学
操作水平	细胞器、细胞或组织
目的	获得特定的细胞、组织、器官、个体或其产品
分类	植物细胞工程和动物细胞工程

2. 植物细胞的全能性

细胞经过___分裂和分化___后，仍然具有产生___完整生物体___或分化成___其他各种细胞___的潜能。


01



一、植物组织培养技术

1. 概念

外植体

指离体________□植物器官□组□或细胞□，培养在人工□制的培养基上，给予适宜的培养条件，诱导其分化为______________________的技术。

完整植株

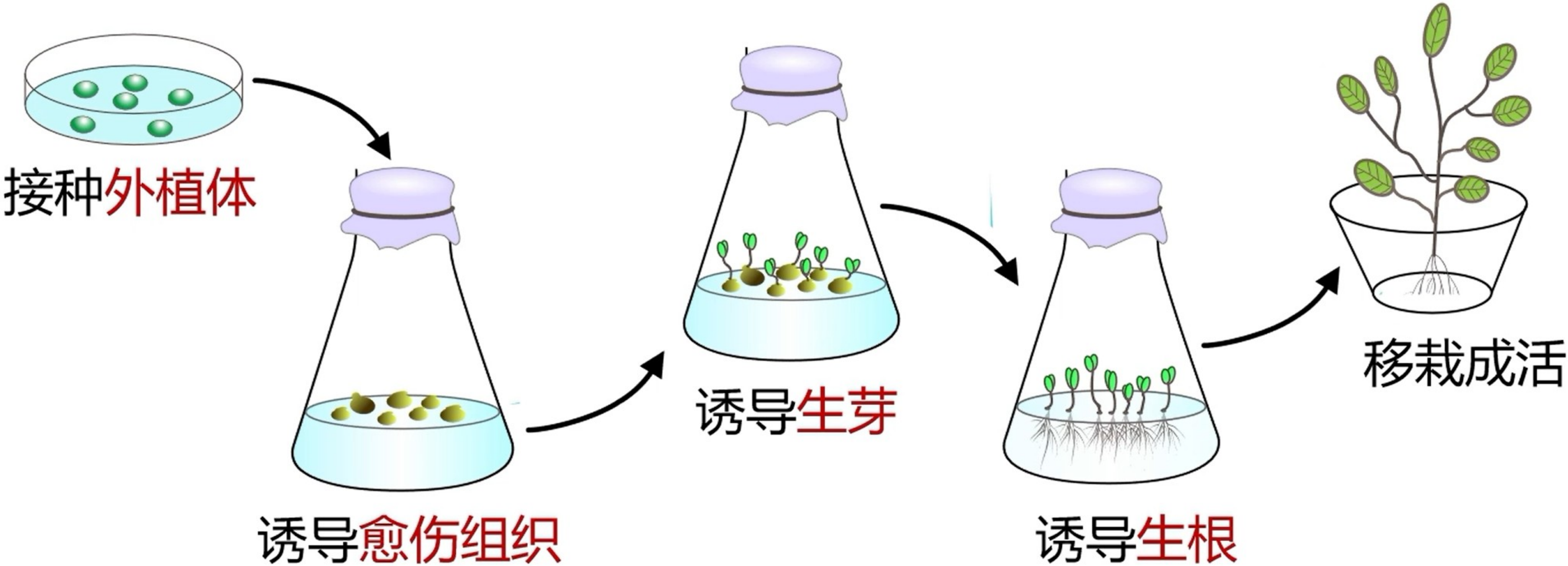
一、植物组织培养技术
2.一般过程

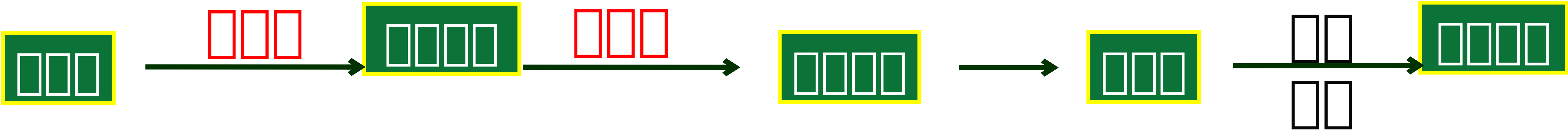
外植体

愈伤组织
试管苗

脱分化 完整植株
芽、根等

再分化 生长
发育





一、植物组织培养技术

2. 一般过程

脱分化：

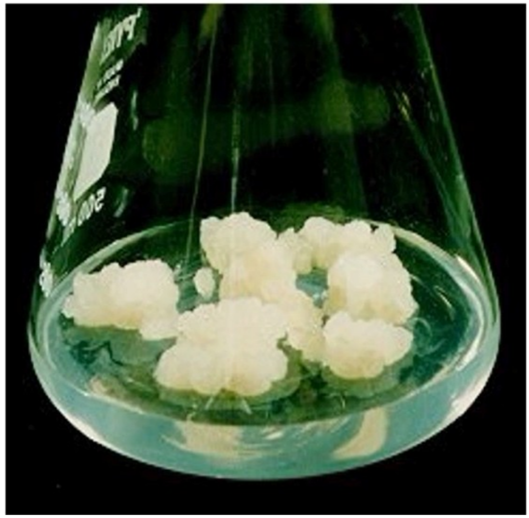
（1）在一定的激素和营养等条件的诱导下，让已分化的细胞失去其特有的结构和功能，转变成未分化细胞的过程

（2）光照条件：一般不需要_______光照

愈伤组织

细胞排列疏松且无规则、高度液泡化、呈无定形状态的薄壁细胞团。

（没有叶绿体，培养基中需要碳源）



[illegible]

2. [illegible]

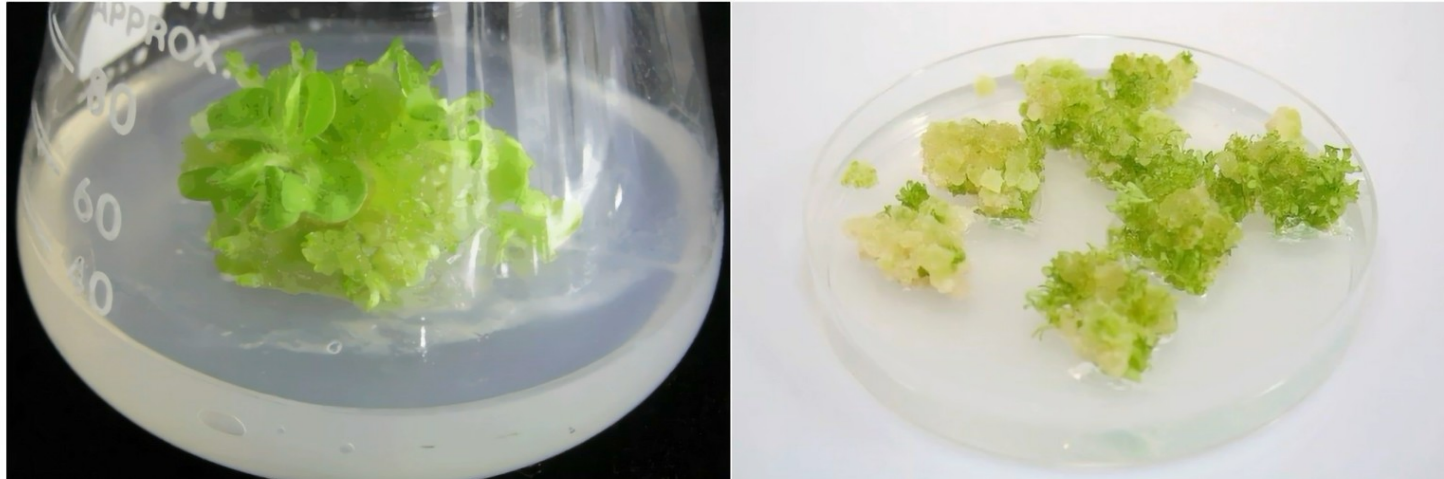
再分化

脱分化产生的愈伤组织继续进行培养，又可以<u>重新分化</u>出芽或根等器官的过程。

①实质 [illegible]

②光照条件 需要给予适当强度的光照

诱导叶绿素的合成，使试管苗能够进行光合作用



□□□□□□□□□□

3. □□□□

1 离体

2 无菌环境

3 适宜的温度、pH和光照等外界条件

4 一定的营养物质、植物激素

1 [illegible] MS [illegible]

P116

一、MS培养基的配方（1 L的用量）

NH_4NO_3（硝酸铵）	1 650 mg	KNO_3（硝酸钾）	1 900 mg
KH_2PO_4（磷酸二氢钾）	170 mg	$MgSO_4·7H_2O$（七水合硫酸镁）	370 mg
$CaCl_2·2H_2O$（二水合氯化钙）	440 mg	$MnSO_4·4H_2O$（四水合硫酸锰）	22.3 mg
$ZnSO_4·4H_2O$（四水合硫酸锌）	8.6 mg	H_3BO_3（硼酸）	6.2 mg
KI（碘化钾）	0.83 mg	$Na_2MoO_4·2H_2O$（二水合钼酸钠）	0.25 mg
$CuSO_4·5H_2O$（五水合硫酸铜）	0.025 mg	$CoCl_2·6H_2O$（六水合氯化钴）	0.025 mg
甘氨酸	2 mg	盐酸硫胺素（维生素 B_1）	0.1 mg
盐酸吡哆醇（维生素 B_6）	0.5 mg	烟酸	0.5 mg
肌醇	100 mg	蔗糖	30 g
琼脂	10 g		
螯合铁盐 *			

1 [illegible]____

2 [illegible]________

3 [illegible]____

[illegible]

① [illegible]

② [illegible]

操作实例——菊花的组织培养

2、操作

制备外植体 → 接种 → 培养 → 试管苗 → 正常植株

用酒精擦拭双手和超净工作台台面。

① 材料：　流水充分冲洗幼嫩的菊花茎段

② 消毒：

酒精 → 无菌水 → 次氯酸钠溶液 → 无菌水洗

30S　2-3 次　30min　2-3 次

③ 切割：　无菌操作

2、操作

制备外植体 → 接种 → 培养 → 试管苗 → 正常植株

不要倒插

在酒精灯火焰旁，将外植体的1/3~1/2插入诱导愈伤组织的培养基中。用封口膜或瓶盖封盖瓶口，并在培养瓶上作好标记。

①避光

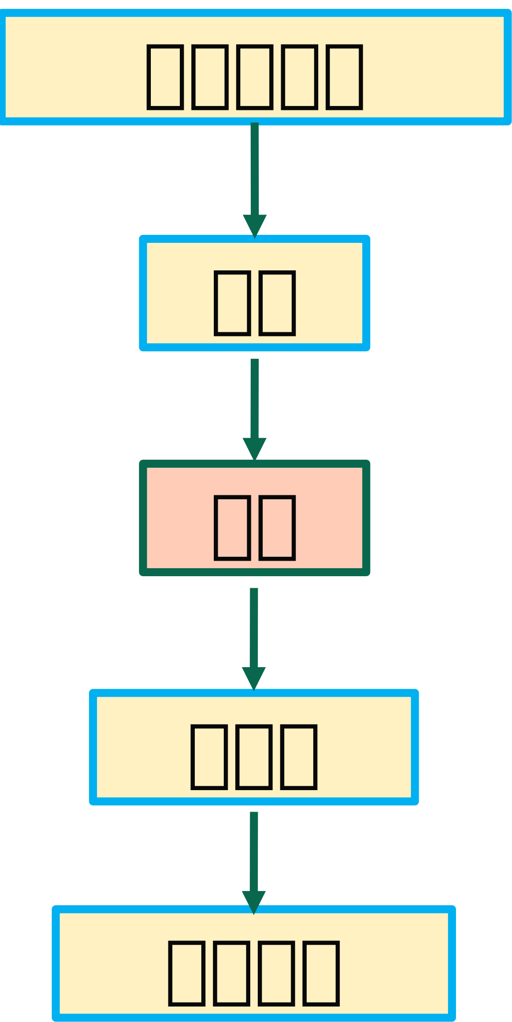
②需要有机碳源

③

适宜的激素比例：生长素、细胞分裂素

适中→利于愈伤组织的形成

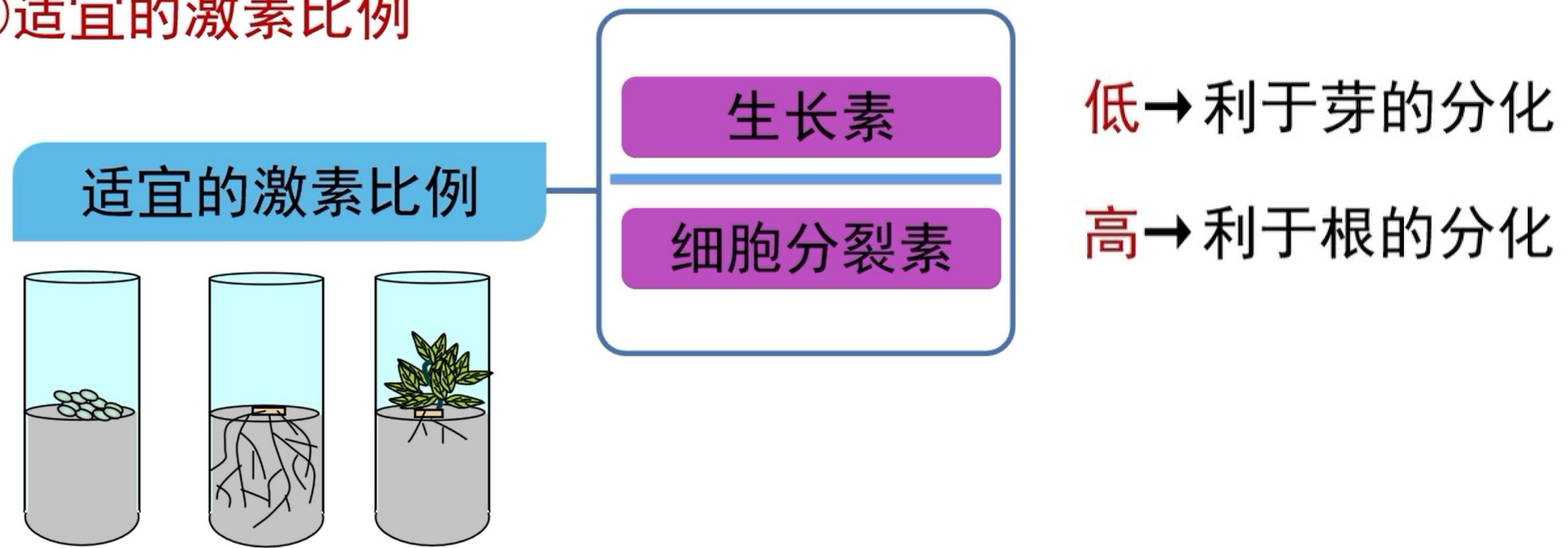
2



培养15~20d后，将生长良好的愈伤组织转接到诱导______的培养基上。________，再将其转接到诱导______的培养基上，进一步诱导形成试管苗。

①需要光照

②适宜的激素比例



操作实例——菊花的组织培养

2、操作

制备外植体 → 接种 → 培养 → 试管苗 → 正常植株

炼苗！

移栽前先打开封口膜或瓶盖，让试管苗在培养箱内生长几日。

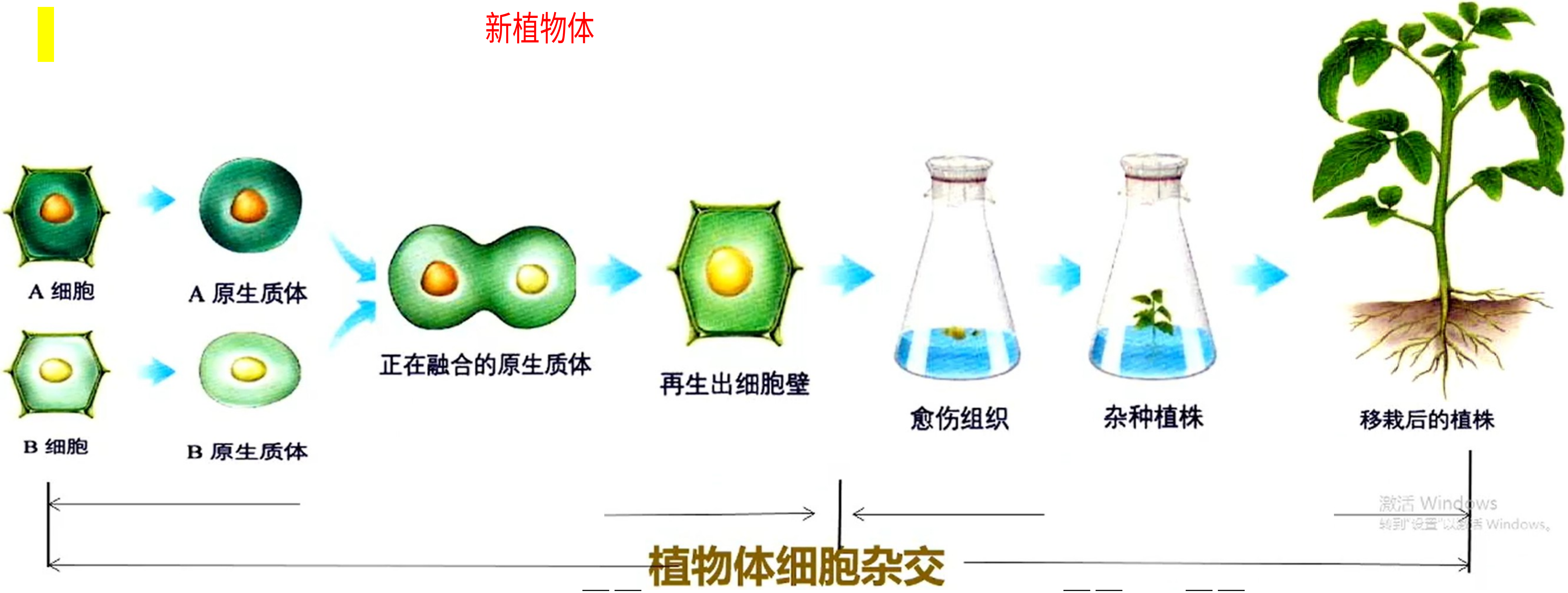
移栽！

用流水清洗掉根部的培养基后，将幼苗移植到消过毒的蛭石或珍珠岩等环境中，待其长壮后再移栽入土。

二、植物体细胞杂交技术

1. 概念

将____不同来源____的植物细胞，在一定条件下融合成____杂种细胞____，并把杂种细胞培育成____新植物体____的技术。



激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。

二、植物体细胞杂交技术

1. 过程

(1)去除细胞壁

① 方法： 酶解法

② 相关酶： 纤维素酶和果胶酶

激活 Windows

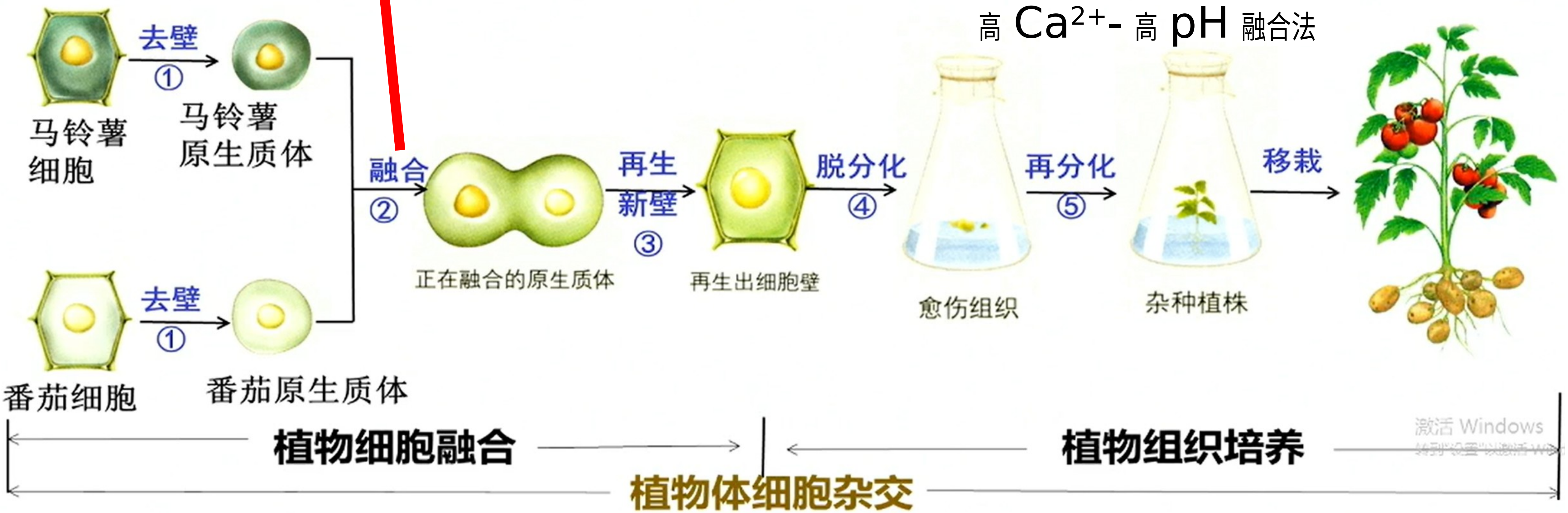
二、植物体细胞杂交技术

1. 过程

(2) 原生质体的融合

① 理论基础：细胞膜具有流动性

② 方法
- 物理方法：电融合法、离心法
- 化学方法：聚乙二醇（PEG）融合法、高 Ca^{2+}- 高 pH 融合法



激活 Windows

[illegible]

1. [illegible]

(3) [illegible]　　[illegible]

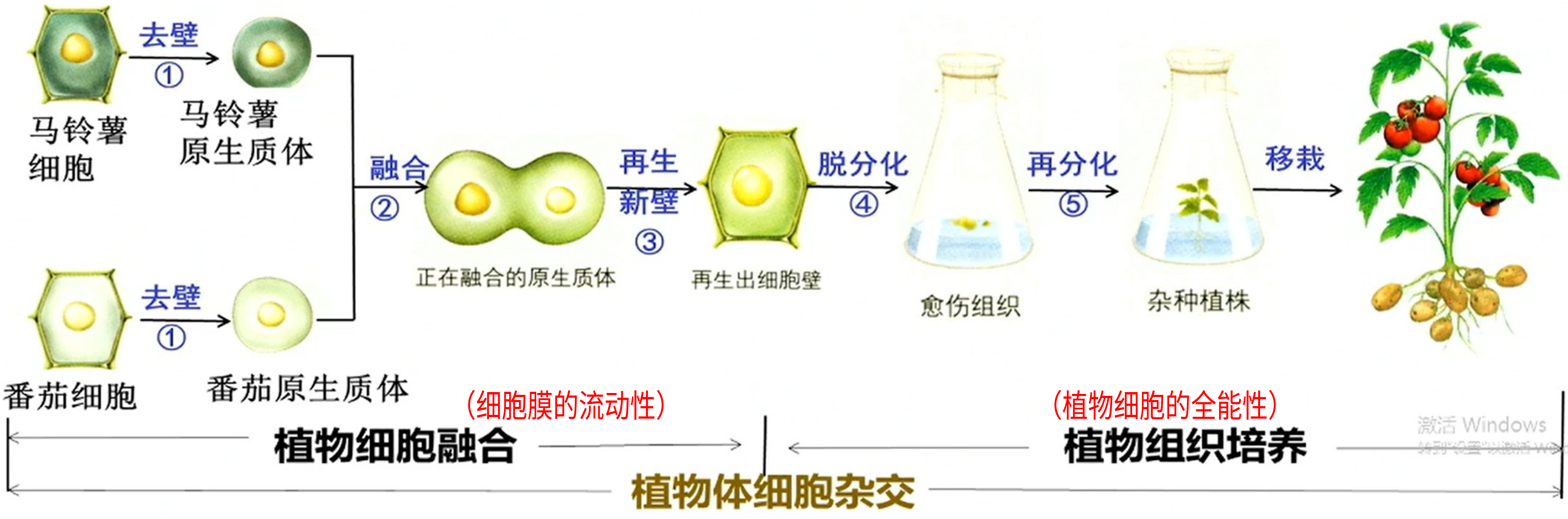
(4) [illegible]　　[illegible]

马铃薯细胞
去壁
①
马铃薯原生质体
番茄细胞
去壁
①
番茄原生质体
融合
②
正在融合的原生质体
再生新壁
③
再生出细胞壁
脱分化
④
愈伤组织
再分化
⑤
杂种植株
移栽
植物细胞融合
植物组织培养
植物体细胞杂交

二、植物体细胞杂交技术

2. 原理

3. 优势　　打破生殖隔离，实现远缘杂交育种 P38



激活 Windows

习题巩固

原理：染色体数目变异

1. 白菜（**2N=18**）与甘蓝（**2N=18**）体细胞杂交所得植株

白菜－甘蓝的细胞染色体数为________，属于**36**（异源）四________倍体。

白菜

+

甘蓝

=

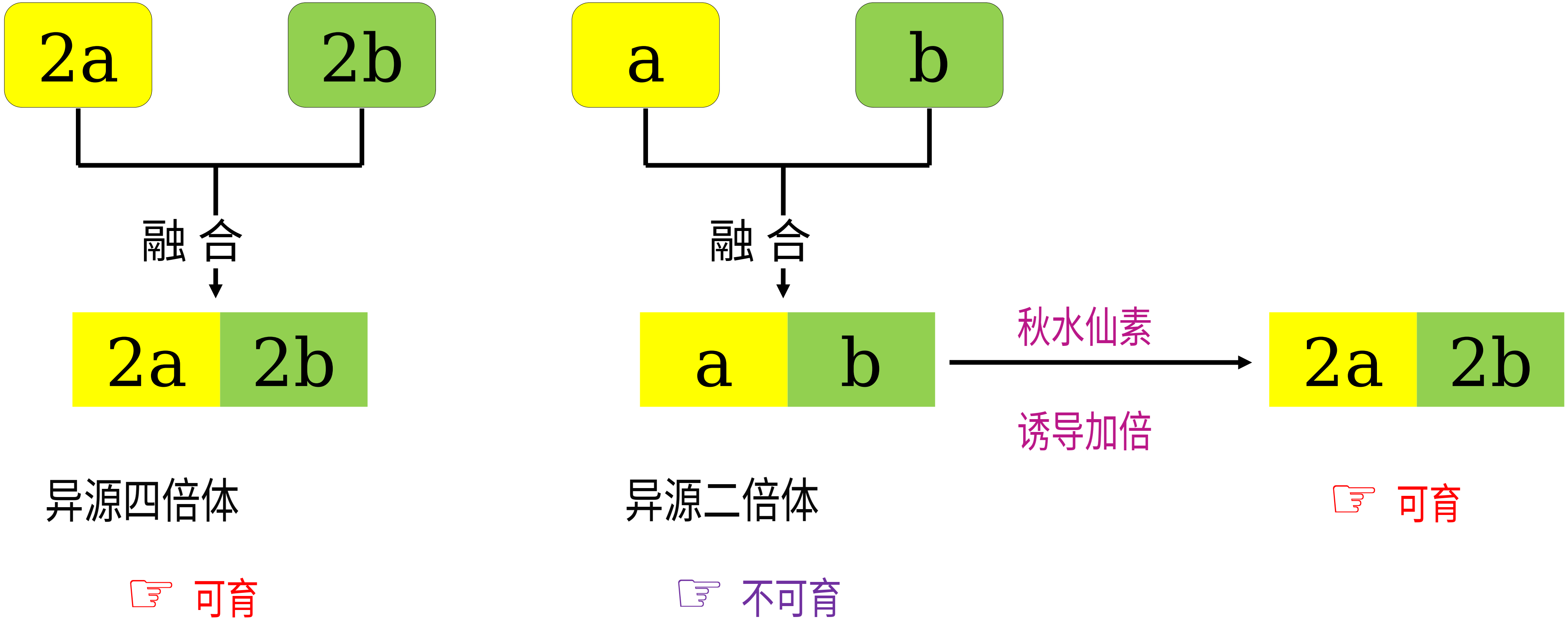
白菜－甘蓝

2. 白菜（**2N=18**）与甘蓝（**2N=18**）进行杂交（相互授粉），

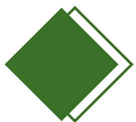
所得植株白菜－甘蓝的细胞染色体数为________，属于____**18**____(异源) 倍二体。

原理：基因重组

1. 亲本植株可育，则杂种植株可育。



2. 杂种植株是不同于亲本的新物种。



3. "番茄—马铃薯"杂种植株没有如科学家所想象的那样，地上结番茄，地下长马铃薯，这是为什么?

生物体内基因的表达不是孤立的，它们之间是相互调控、相互影响的，所以"番茄—马铃薯"杂种植株的细胞中虽然具备两个物种的遗传物质，但这些遗传物质的表达相互干扰，它们不能再像马铃薯或番茄植株中的遗传物质一样有序表达，杂种植株自然就不能地上结番茄、地下长马铃薯了。

（一）植物繁殖的新途径

外植体 —脱分化→ 愈伤组织 —再分化→ 根、芽 → 试管苗

[illegible]

1 [illegible]

（1）概念：

用于快速繁殖优良品种的植物组织培养技术，被称为植物的快速繁殖技术，也叫作微型繁殖技术。

原理： 植物细胞的全能性

（2）优点：

①高效快速地实现种苗的大量繁殖

②保持优良品种的遗传特性 [illegible]

③不受自然生长季节的限制，培养周期短。

④选材少，繁殖率高，便于自动化管理。

□□□□□□□□□□□□□□□□

2 □□□□□

马铃薯

草莓

香蕉

（1）脱毒原因

（2）脱毒方法

顶端分生区（如茎尖）：病毒极少，甚至无毒

↓ 组培

脱毒苗

脱毒苗≠抗毒苗

（3）优点：明显提高农作物的产量和品质

（二）作物新品种的选育

三、应用（二）作物新品种的选育

1 、单倍体育种

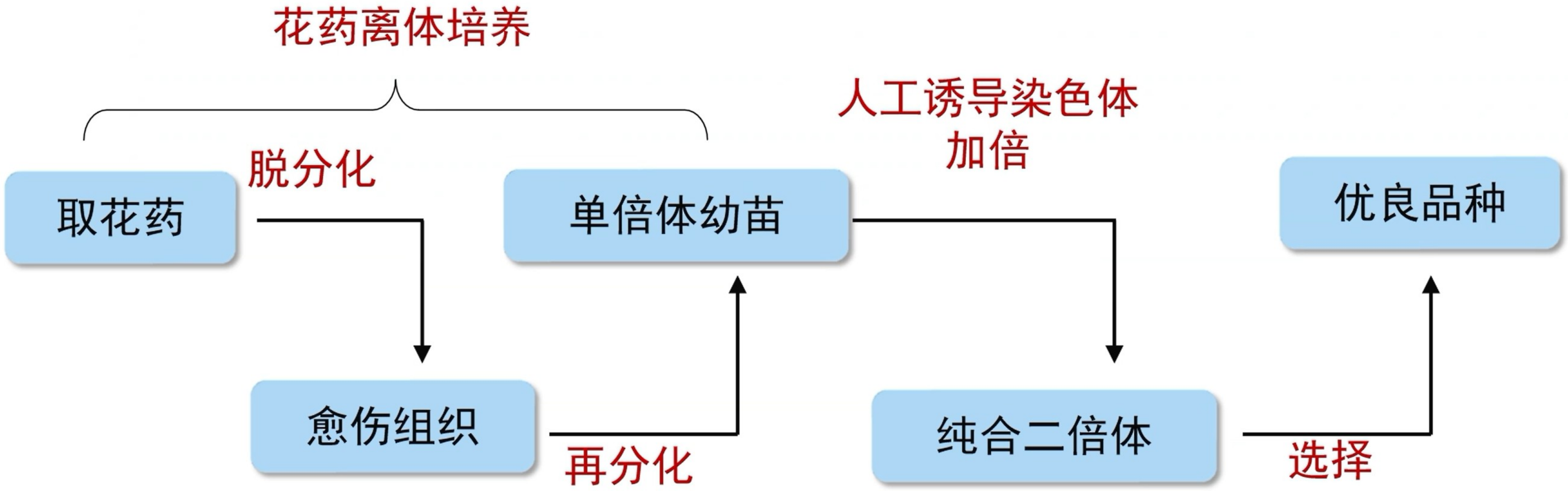
（1）原理：植物细胞的全能性、染色体数目变异

（2）属于____有性繁殖

（3）优点：

后代基本是纯合子，能稳定遗传；

明显缩短育种年限，加速育种进程。



[illegible]

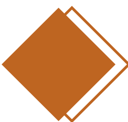
2 [illegible]

（1）产生原因：

在植物组织培养过程中，由于培养细胞一直处于不断增殖的状态，因此容易受到培养条件和诱变因素（如射线、化学物质等）的影响而产生突变。

（2）过程：

（3）原理：基因突变和植物细胞的全能性。

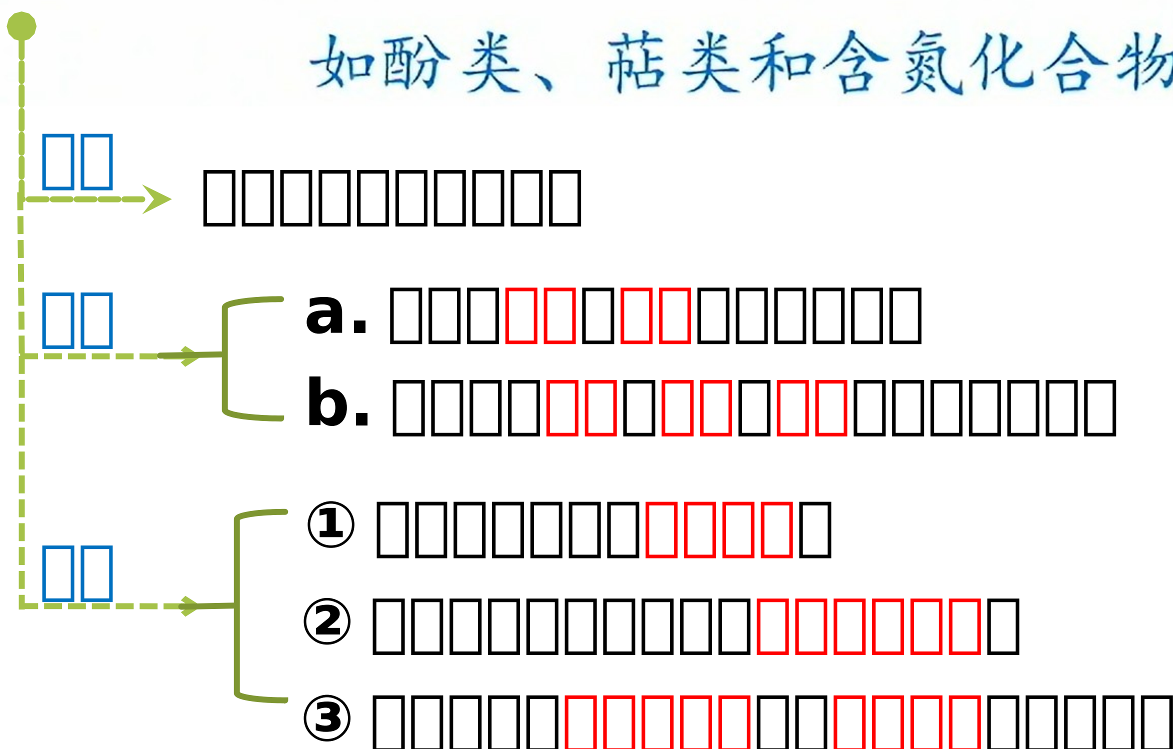


初生代谢：生物生长生存所必需的代谢活动

如糖类、脂质、蛋白质、核酸等

次生代谢：非生物生长所必需，在特定条件下进行

如酚类、萜类和含氮化合物等



a.

b.

①

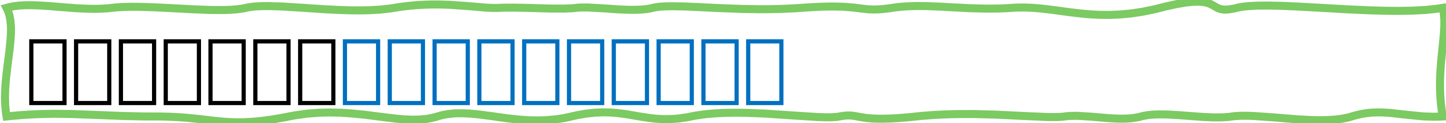
②

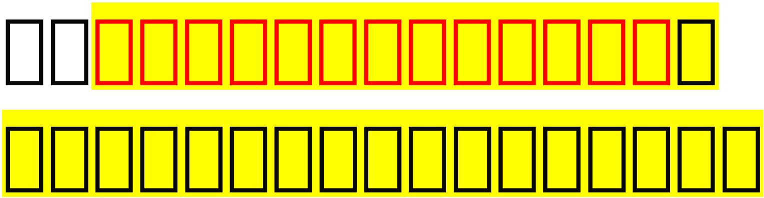
③

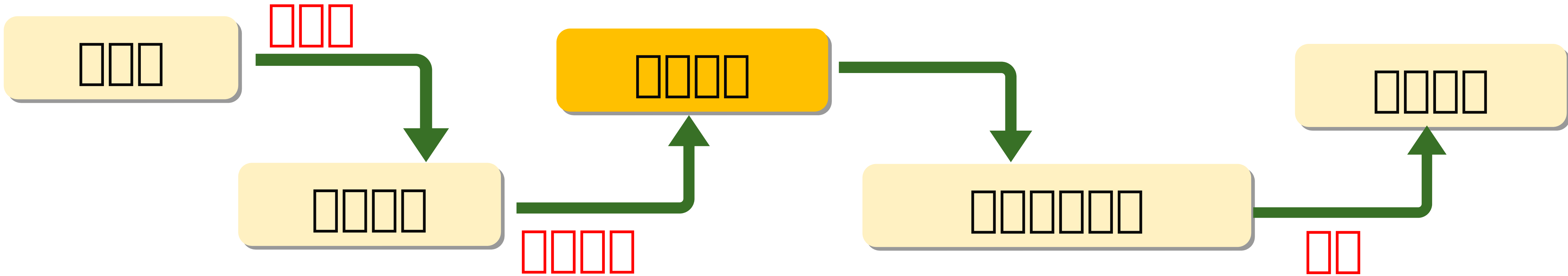
含量低

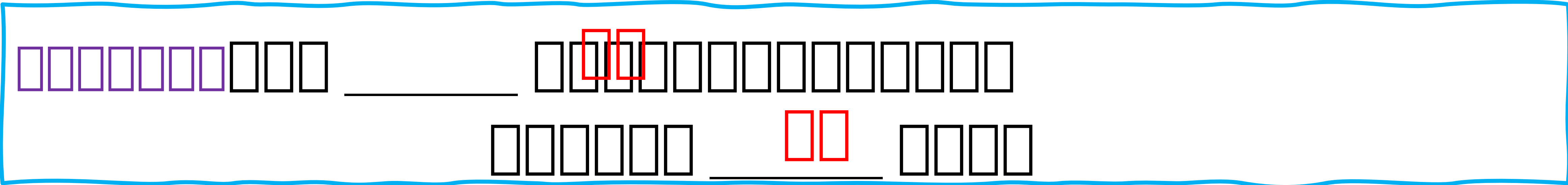
提取难

化学合成途径难





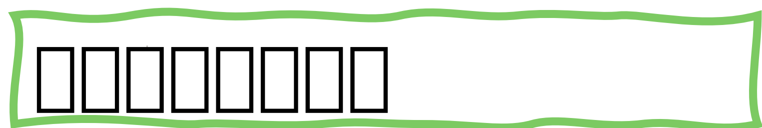


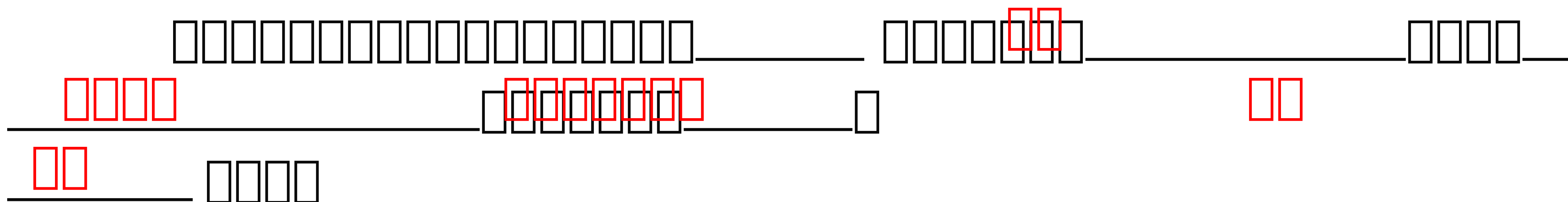


02

动物细胞工程

- 动物细胞培养 → 动物细胞工程的基础
- 动物细胞融合
- 动物细胞核移植





目的： 获得细胞或细胞产物（不能获得完整动物个体）

原理： 细胞增殖（有丝分裂）

□□□□□□□□

1. □□

（1）培养基构成：合成培养基 ＋ 血清等一些天然成分

将细胞所需的营养物质按种类和所需量严格配置而成的培养基

原因？

血清中含有尚未全部研究清楚的细胞所需的营养物质

[illegible]

1. [illegible]

（1）培养基构成：合成培养基 ＋ 血清等一些天然成分

（2）培养基类型： 固体培养基 or 液体培养基 √ [illegible]

[illegible]

2. [illegible]

无菌：

①对 培养液 和所有培养用具进行灭菌处理

②在无菌环境下进行操作

无毒：

定期更换培养液

原因：清除代谢物，
防止细胞代谢物积累对细胞自身造成危害

一、动物细胞培养

3. 温度、pH 和渗透压

与内环境的理化性质一样

① 适宜的温度：哺乳动物细胞培养的温度多以 **36.5 ± 0.5°C** ________□□□

② 适宜的 pH：多数动物细胞生存的适宜 **pH** 为 **7.2～7.4** ________□

③ 适宜的渗透压：维持细胞正常的____形态____和____功能____。

4. 气体环境

①气体的组成及作用
- 95%空气　细胞代谢所必需
- 5%CO_2　维持培养液的pH

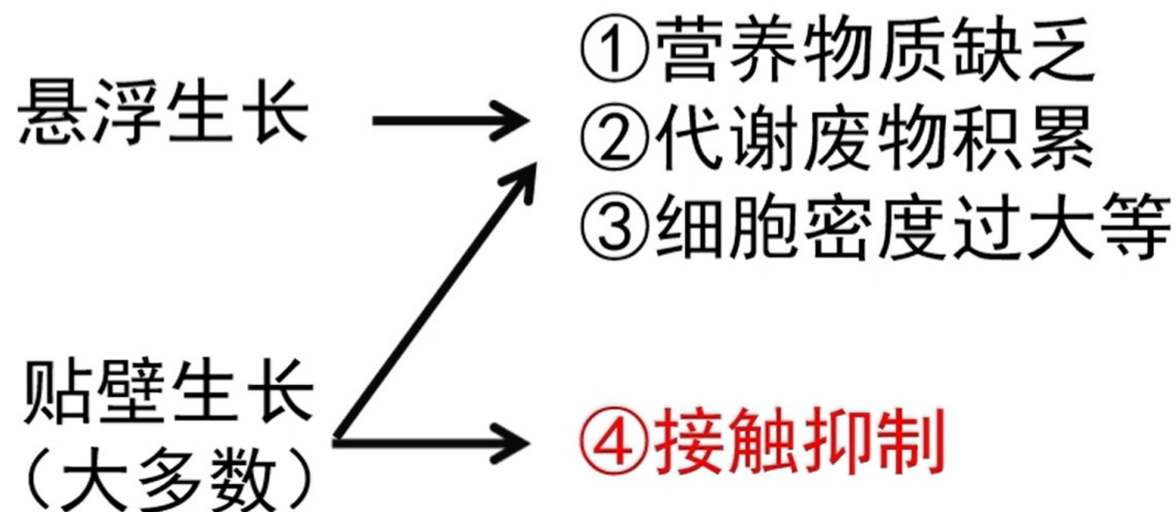
②培养装置：培养皿或松盖培养瓶 —置于→ CO_2培养箱

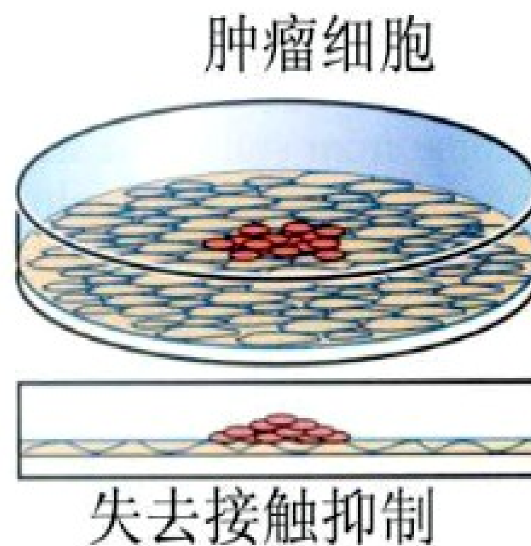
体外培养的动物细胞类型：

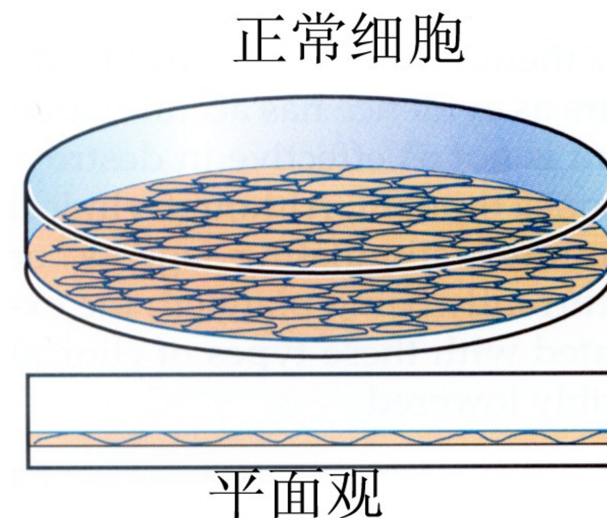
①悬浮生长类：能够**悬浮**在培养液中生长增殖。

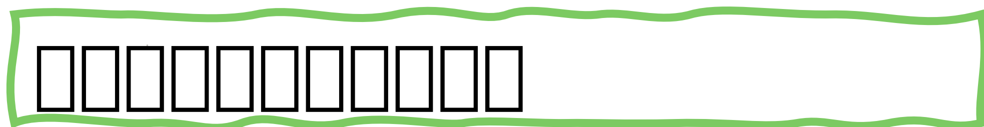
②**贴壁**生长类：需要**贴附**于某些基质表面才能生长增殖。**大多数**细胞属于这种类型。

影响体外培养细胞增殖的因素：

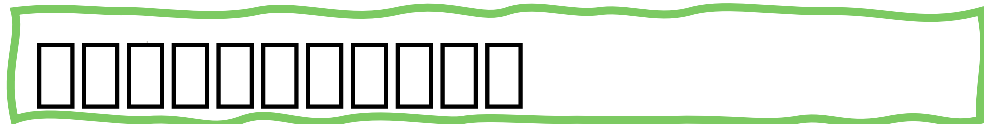


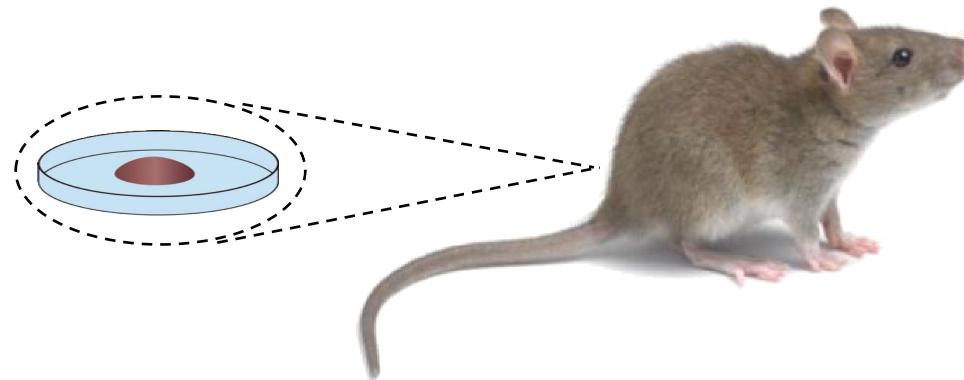






动物组织 ⟶ 分散成单个细胞 ⟶ 培养





1

（1）取材：

幼龄动物 √ or 老龄动物

分化程度低的细胞 √ or 分化程度高的细胞

（2）取材原因：

细胞分化程度低，增殖能力强，容易培养

[illegible]

1 [illegible]

2 [illegible]

（1）将组织分散成单个细胞的方法有什么？

①机械法

②用胰蛋白酶、胶原蛋白酶等处理一段时间

1

①②

2

（2）常用胰蛋白酶分散细胞，这说明细胞间的物质主要是什么成分？用胃蛋白酶行吗？

说明细胞间的物质主要是蛋白质

不行

[illegible]

1 [illegible]

[illegible]①②

2 [illegible]

（3）用胰蛋白酶、胶原蛋白酶处理组织块，使组织分散成单个细胞的目的是什么？

①分散不会限制彼此的生长与增殖；

②分散有利于与培养液充分接触，
更易进行物质交换

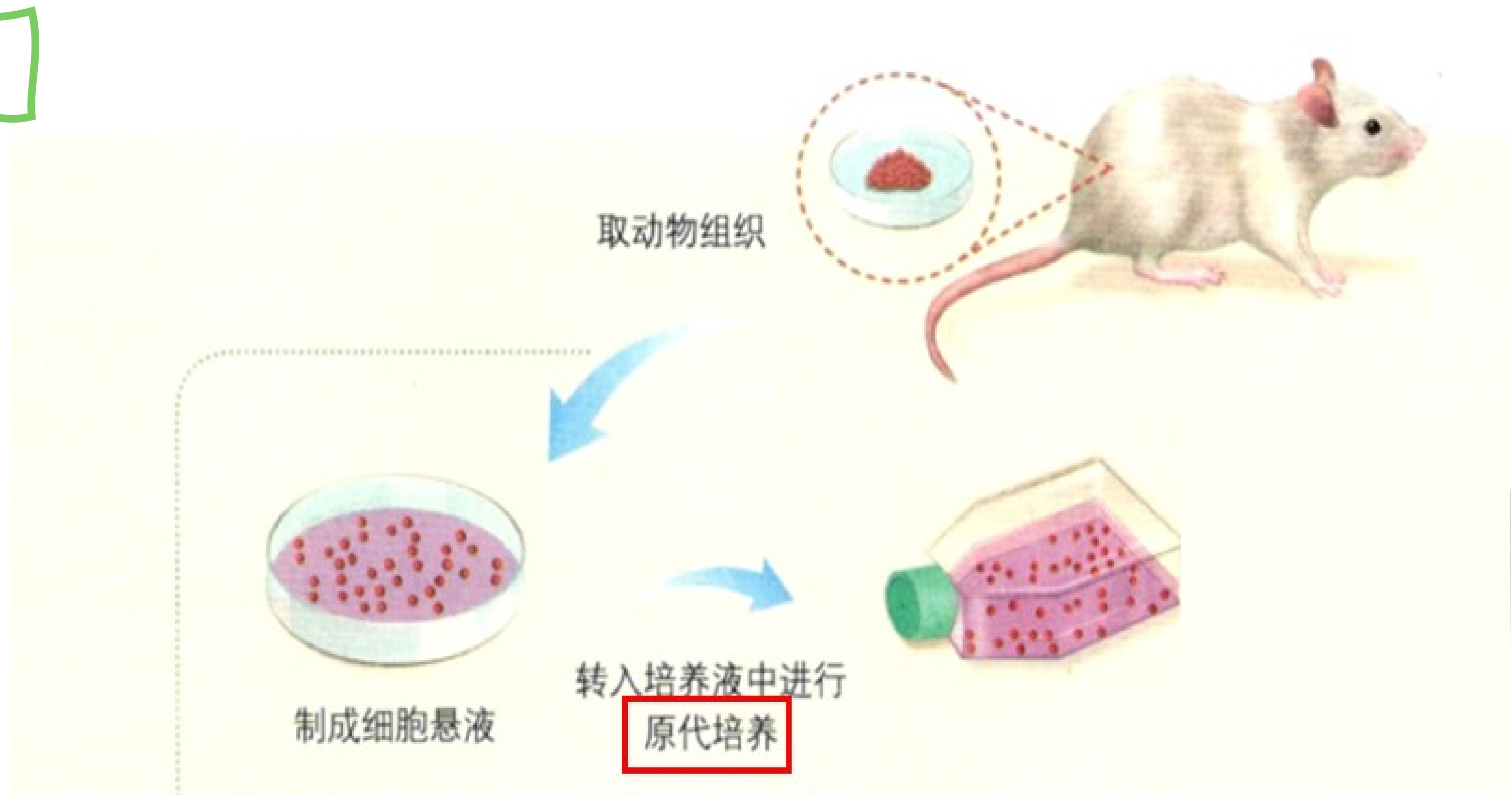
1

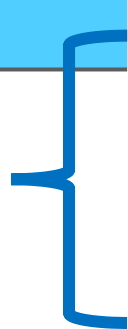
①②

2

3

4

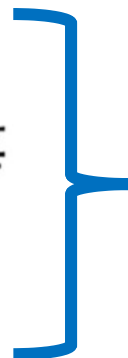




悬浮生长

贴壁生长
（大多数）

①营养物质缺乏
②代谢废物积累
③细胞密度过大等
④接触抑制



[illegible]

1 [illegible]

[illegible]①②

2 [illegible]

[illegible]

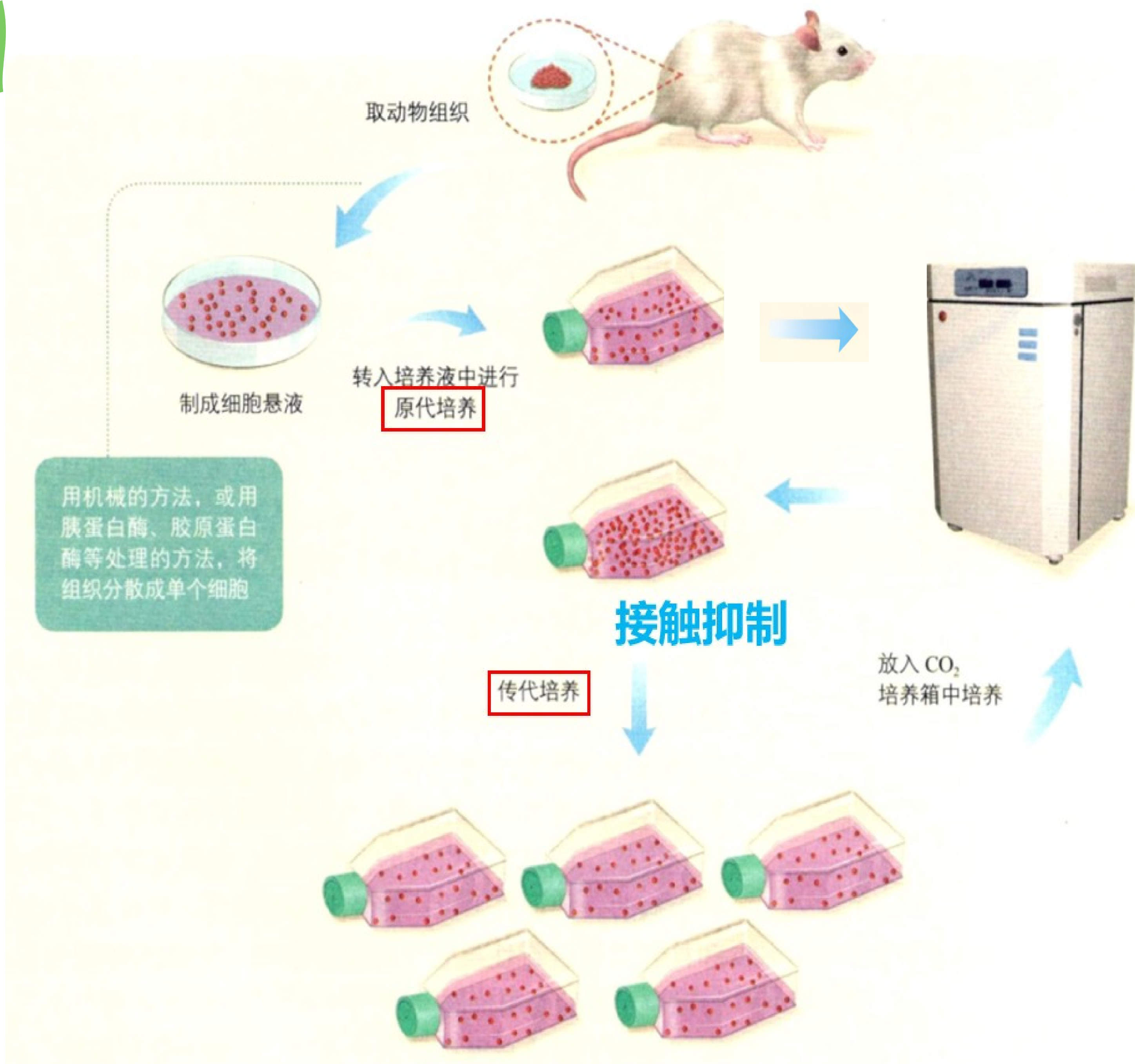
3 [illegible]

[illegible]

4 [illegible]

[illegible]

5 [illegible]



取动物组织
制成细胞悬液
转入培养液中进行
原代培养
用机械的方法，或用胰蛋白酶、胶原蛋白酶等处理的方法，将组织分散成单个细胞
接触抑制
传代培养
放入CO_2
培养箱中培养

二、动物细胞培养的过程

1、取动物组织

↓ 方法：①②

2、分散成单个细胞

↓ 培养液

3、制成细胞悬液

↓ 在培养皿或培养瓶内

4、原代培养

↓ 分瓶

5、传代培养

4.原代培养

5.传代培养

培养瓶或培养皿壁要求：

表面光滑、无毒、易于贴附。

[illegible]

1 [illegible]

[illegible]①②

2 [illegible]

[illegible]

3 [illegible]

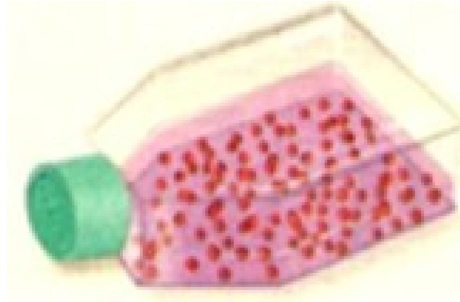
[illegible]

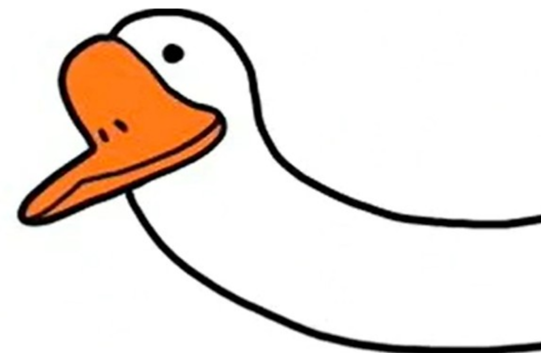
4 [illegible]

[illegible]

5 [illegible]

5.传代培养





（1）收集细胞

①悬浮生长类： 直接用离心法收集

②贴壁生长类：

重新用胰蛋白酶等处理，使之分散成单个细胞，然后再用离心法收集

（2）将收集的细胞制成细胞悬液，分瓶培养

激活 Windows
转到“设置”以激活 Windows。

植物组织培养和动物细胞培养的比较

比较项目	植物组织培养	动物细胞培养
原理	植物细胞的全能性	细胞增殖
培养基性质	固体	液体
培养基特有成分	植物激素	动物血清
培养过程	脱分化、再分化	原代培养、传代培养
培养结果	可获得植物体	动物细胞群
培养目的	快速繁殖植物	得到动物细胞及细胞产物

相同点：

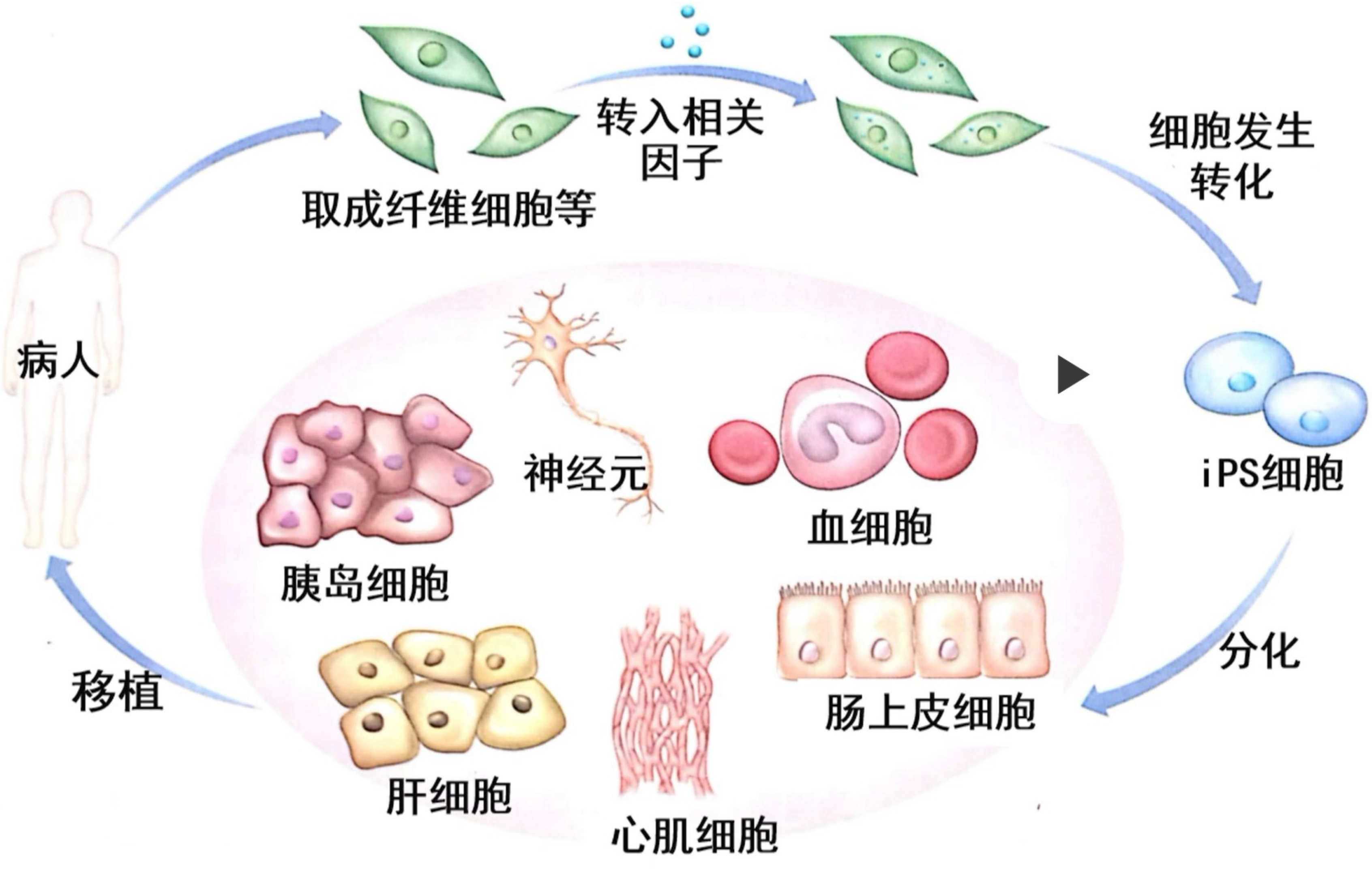
培养基中都需要加入营养物质、培养过程中都需要防止杂菌污染、都需要提供适宜的温度、 **pH** 和渗透压的条件。

三、干细胞的培养及其应用

干细胞
- 定义 → 动物和人体内保留的具有分裂和分化能力的细胞。
- 分布 → 早期胚胎、骨髓和脐带血等多种组织和器官中
- 种类 → 胚胎干细胞（**ES** 细胞）；成体干细胞

种类	胚胎干细胞	成体干细胞
来源	早期胚胎	成体组织或器官内的干细胞， 包括造血干细胞、神经干细胞和精原干细胞等。
特点	具有分化为成年动物体内的任何一种类型的细胞，并进一步形成机体的所有组织器官甚至个体的潜能。	具有组织特异性，只能分化成特定的细胞或组织，不具有发育成完整个体的能力。

三、干细胞的培养及其应用



iPS细胞用于治疗人类疾病示意图

取成纤维细胞

↓

转入相关因子

↓

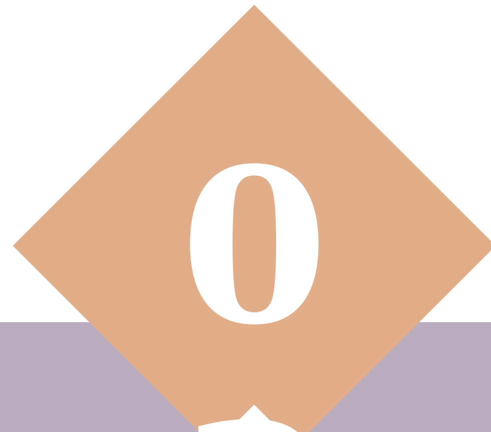
细胞转化为 **iPS** 细胞

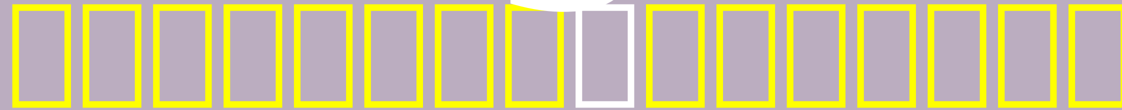
↓

诱导 **iPS** 细胞定向分化为多种组织细胞

↓

移植回病人体内


03

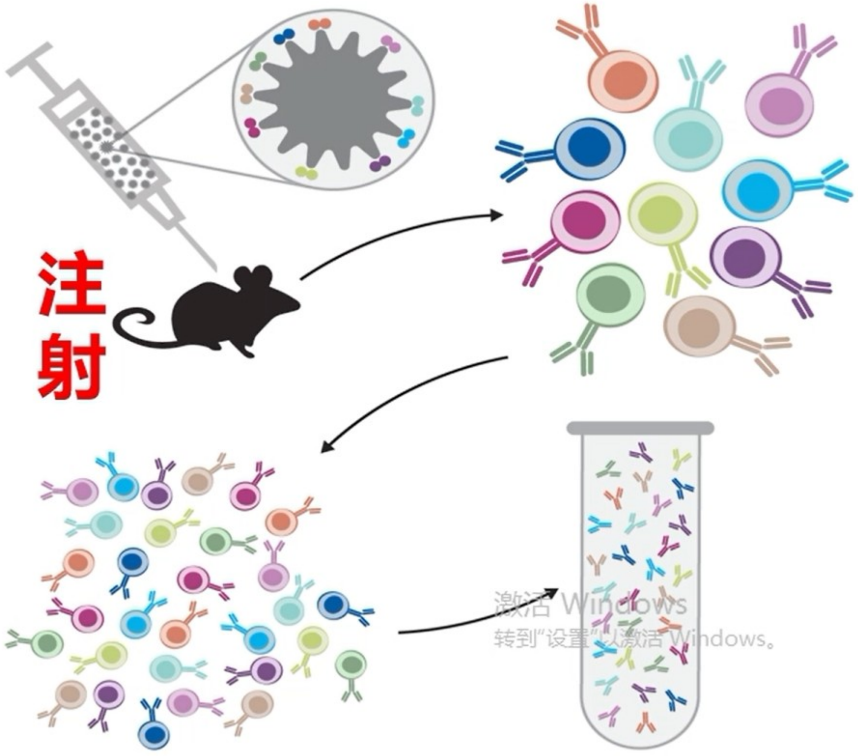


一、单克隆抗体

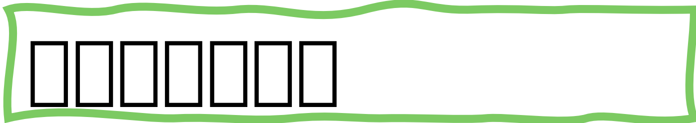
早期获得抗体的方法

抗原 —反复注射→ 动物体内 → 多种浆细胞 → 多种抗体（血清）

缺点 产量低，纯度低，制备的抗体特异性差

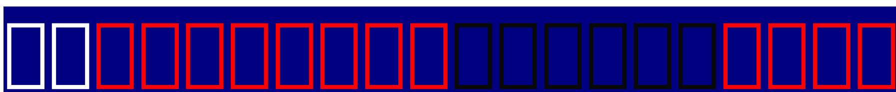


激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。



1. 概念

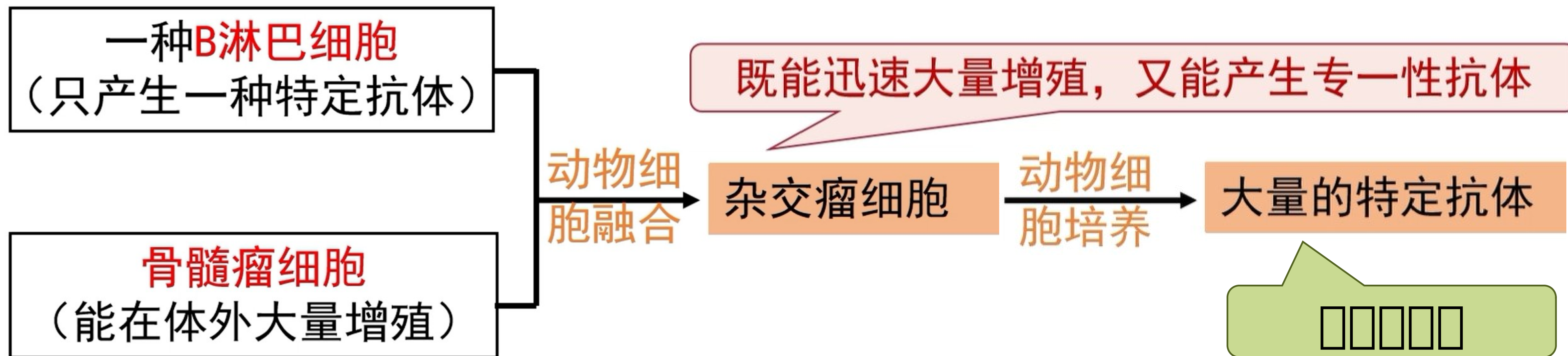
由单个B淋巴细胞经过克隆（无限增殖），形成基因型相同的细胞群，这一细胞群所产生的化学性质单一、特异性强的抗体。



1. 概念

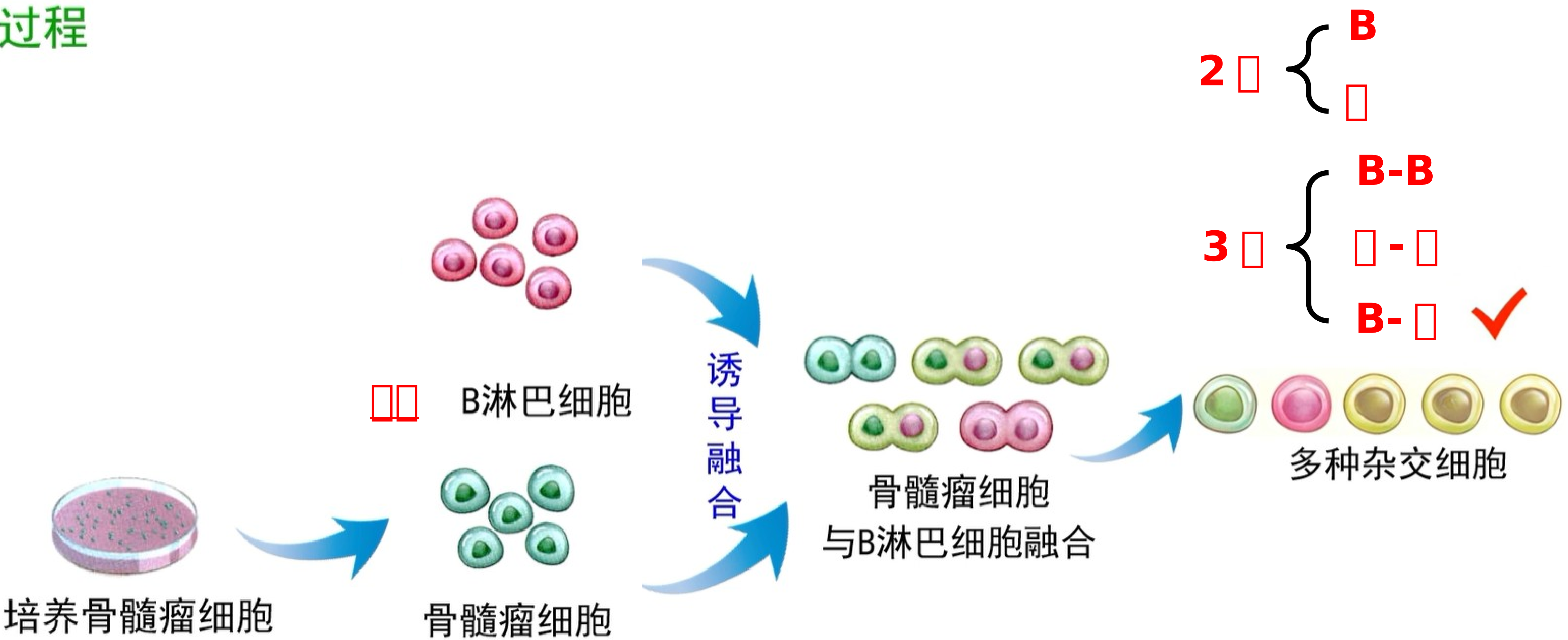
由单个B淋巴细胞经过克隆（无限增殖），形成基因型相同的细胞群，这一细胞群所产生的化学性质单一、特异性强的抗体。

2. 原理



□□□□□□□

3. 过程



□□□□□□□

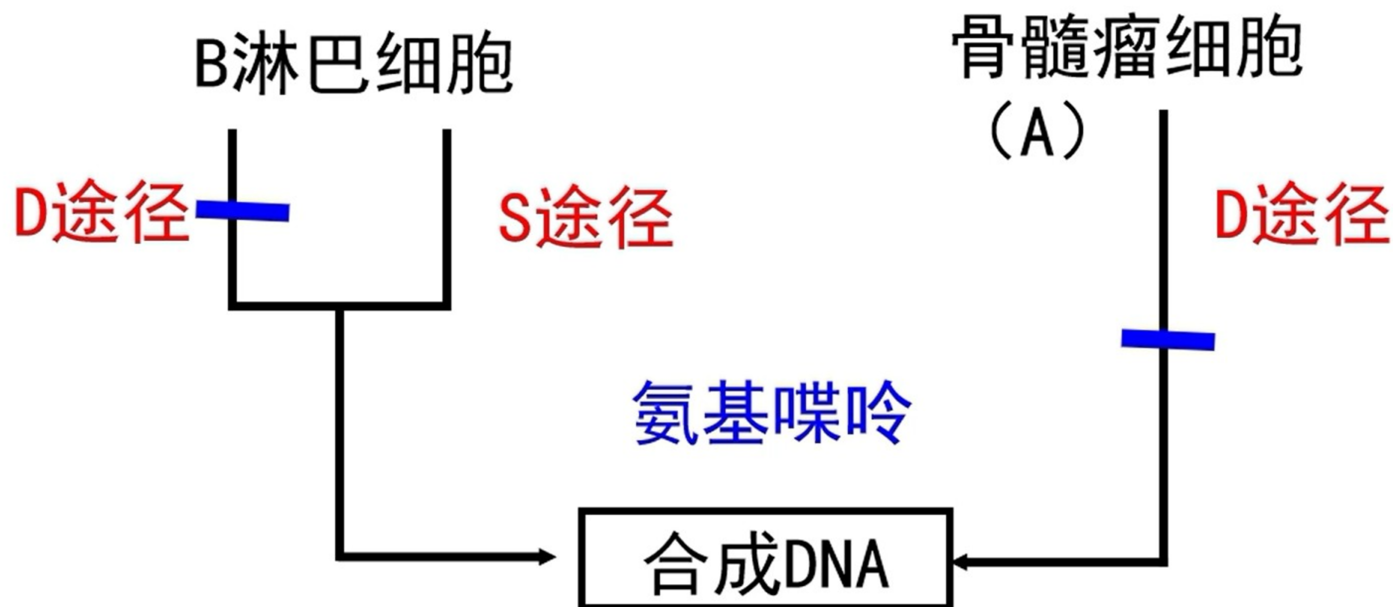
3. 过程

第1次筛选：

□B-□)

①目的：得到□□□□□____________（既能迅速大量繁殖，又能产生抗体）

②方法：用特定的□□□□□____________进行筛选



激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。

□□□□□□□

3. 过程

第1次筛选：

①目的：得到□□□□□__________（既能迅速大量繁殖，又能产生抗体）

②方法：用特定的□□□□□___________进行筛选

③结果：在该培养基上，未融合的亲本细胞和融合的具有同种核的细胞都会死亡，只有融合的杂交瘤细胞才能生长。

一、单克隆抗体

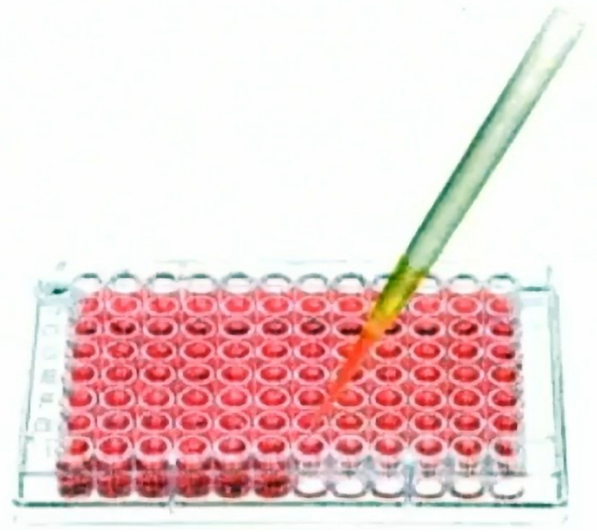
3. 过程

第2次筛选： AB_1、AB_2、AB_3 ……

①目的：获得足□数量的、能分泌所需抗体的杂交瘤细胞

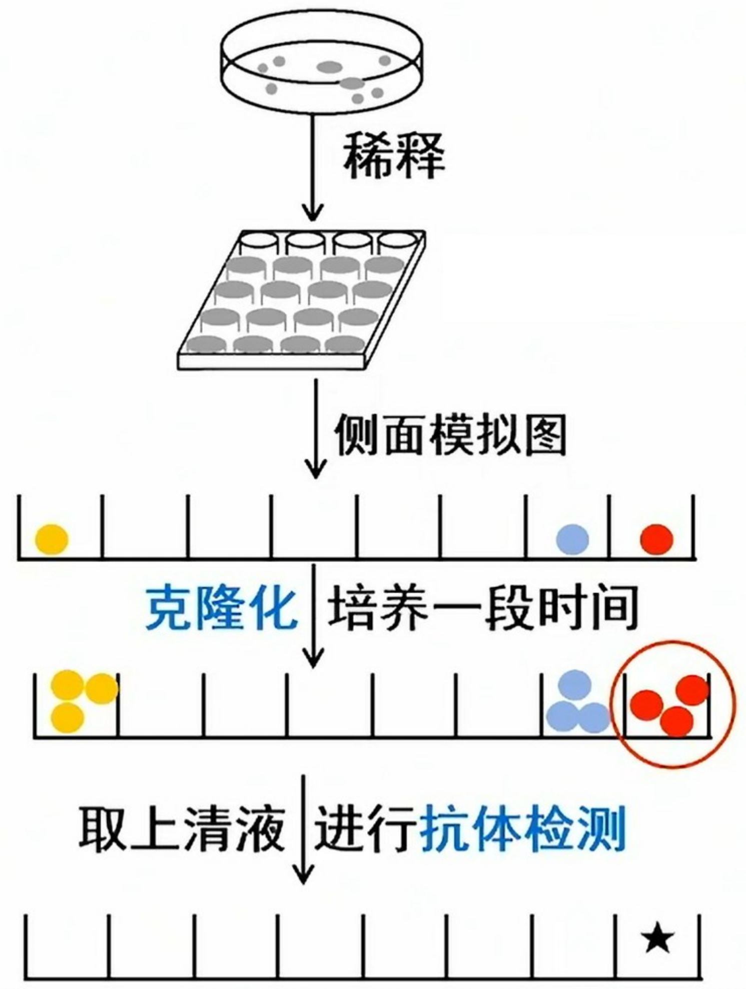
②方法： 克隆化培养、 抗体检测

杂交瘤细胞



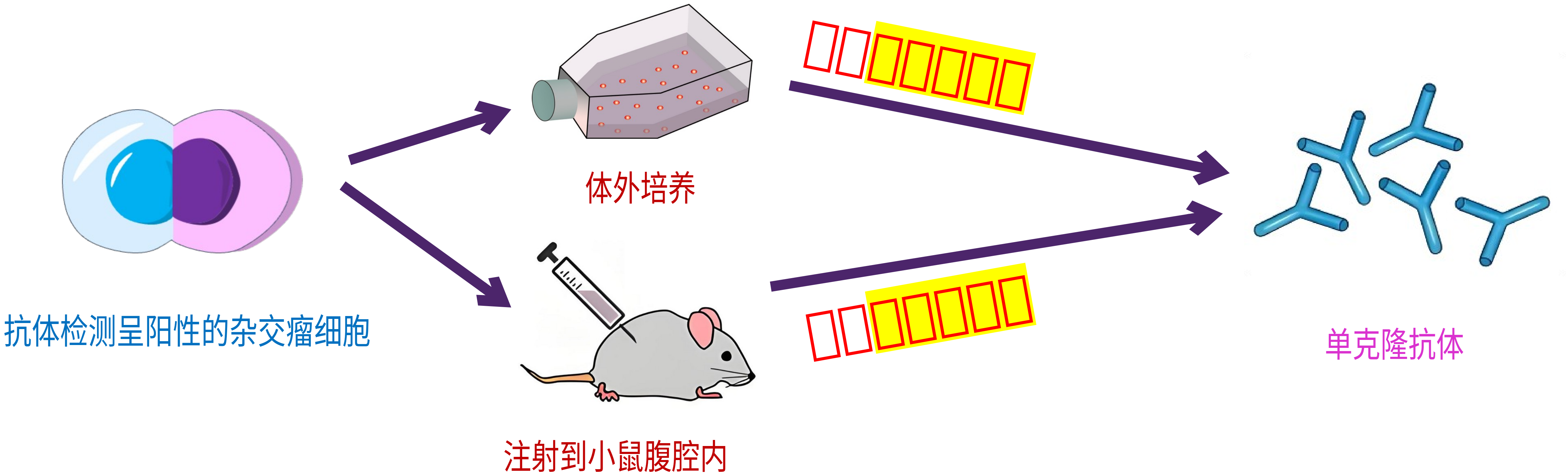
多孔细胞培养板（如96孔板）

每一个孔中尽量只接种一个杂交瘤细胞



一、单克隆抗体

3. 过程



□□□□□□□

注射抗原 → 已免疫的B淋巴细胞　　骨髓瘤细胞

诱导融合

杂交细胞

筛选一

杂交瘤细胞

既能大量繁殖
又能产生专一抗体

筛选二

分泌特异抗体的杂交瘤细胞

□□□□□□□□

体外或
体内培养

杂交瘤细胞群

特异性强
灵敏度高
可大量制备

提取

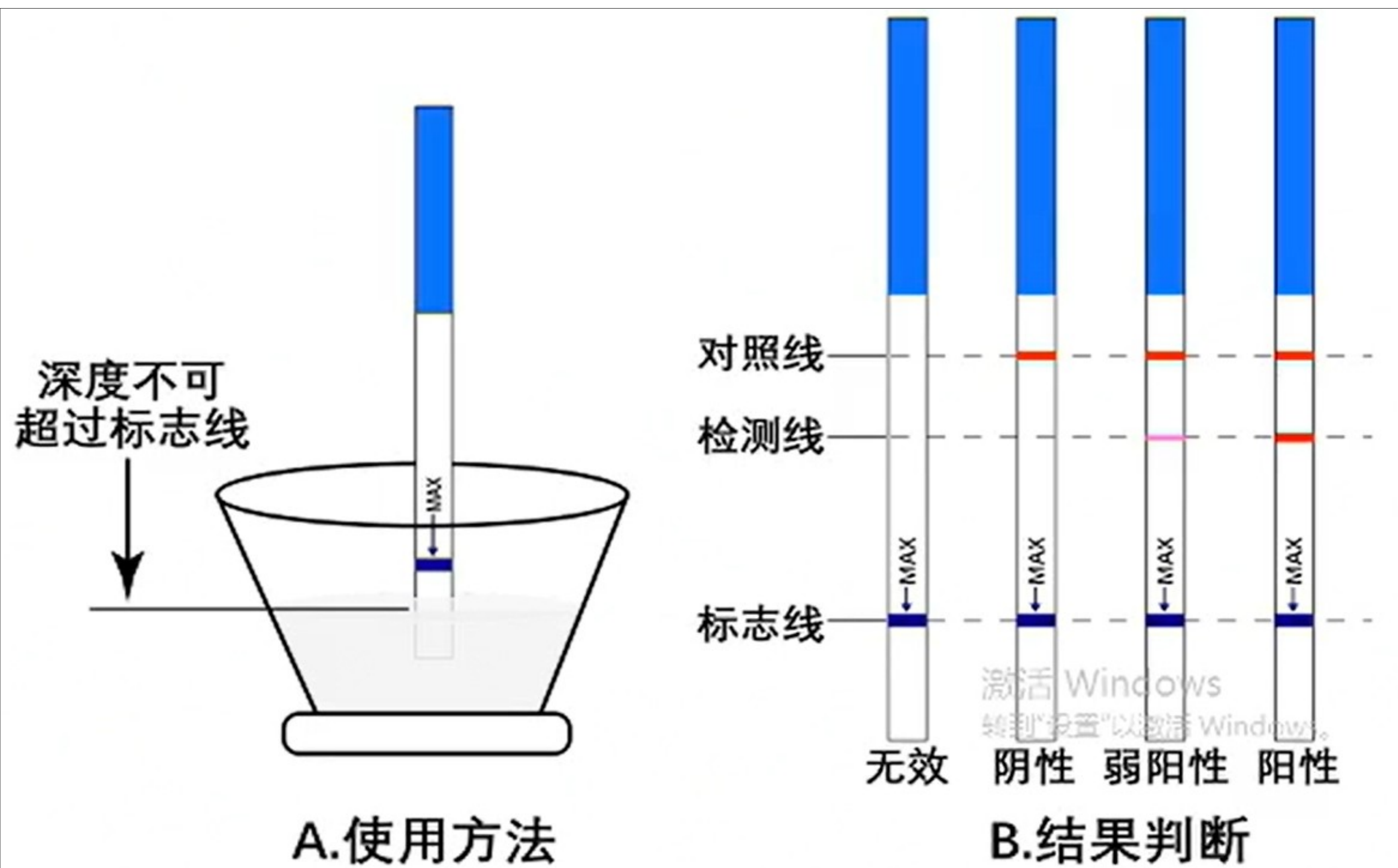
单克隆抗体

□□□□□□□□

激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。

一、单克隆抗体

4. 应用



①作为诊断试剂

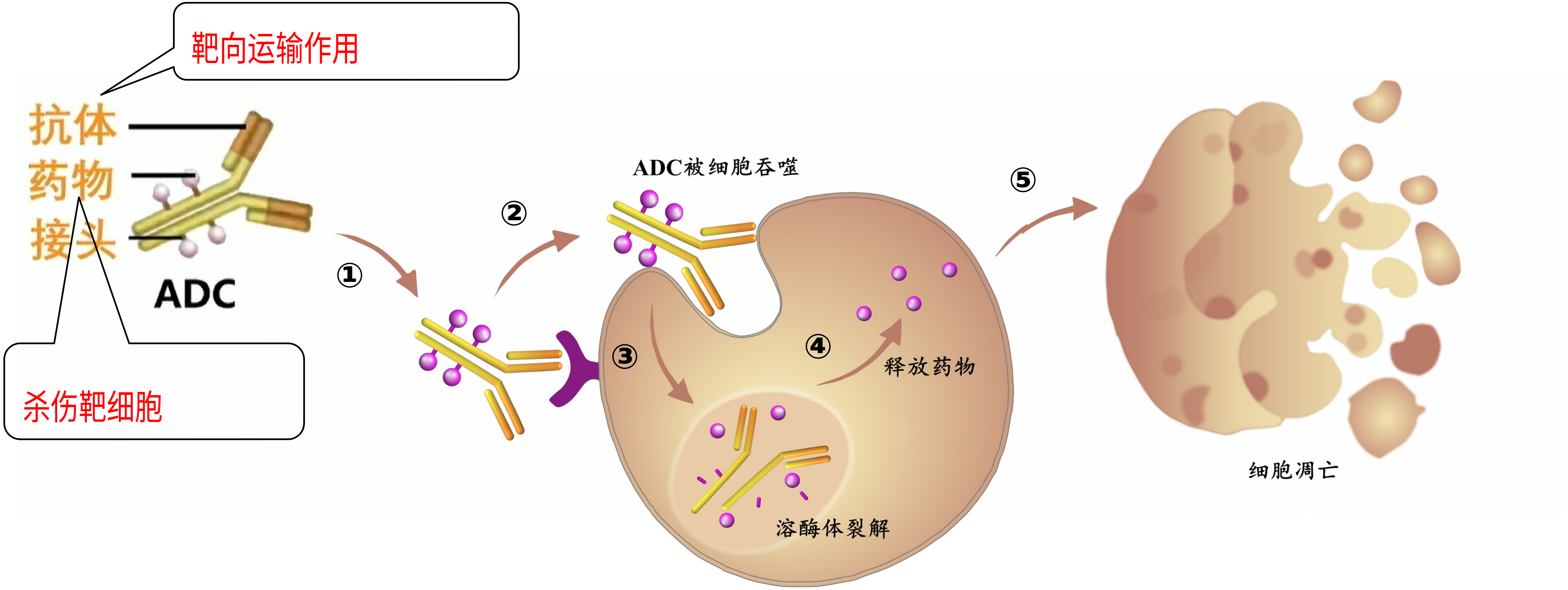
女性怀孕后会分泌一种糖蛋白——人绒毛膜促性腺激素（HCG），尿液中会检出HCG的存在。

用抗HCG单克隆抗体制备的试纸可以测试女性是否怀孕。

一、单克隆抗体

4. 应用

② 用于疾病的治疗和运载药物（主要用于癌症的治疗）



□□□□□□□

4. □□

② □□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□

原理：

通过将药物与________________________的单克隆抗体结合，实现对肿瘤细胞的___________；发挥杀伤作用的为______________________________；单克隆抗体作用为____________；

激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。

一、单克隆抗体

4. 应用

② 用于疾病的治疗和运载药物（主要用于癌症的治疗）

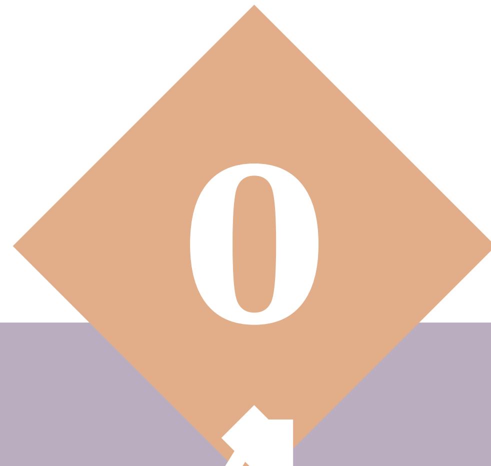
特点：

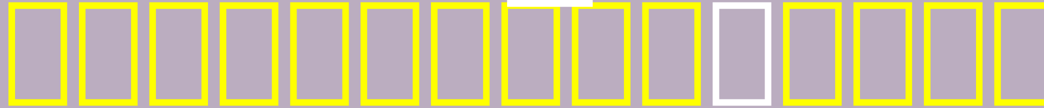
a. 特异性强、灵敏度高

b. 疗效高、毒副作用小

不损伤正常细胞　，减少剂量。

激活 Windows
转到"设置"以激活 Windows。

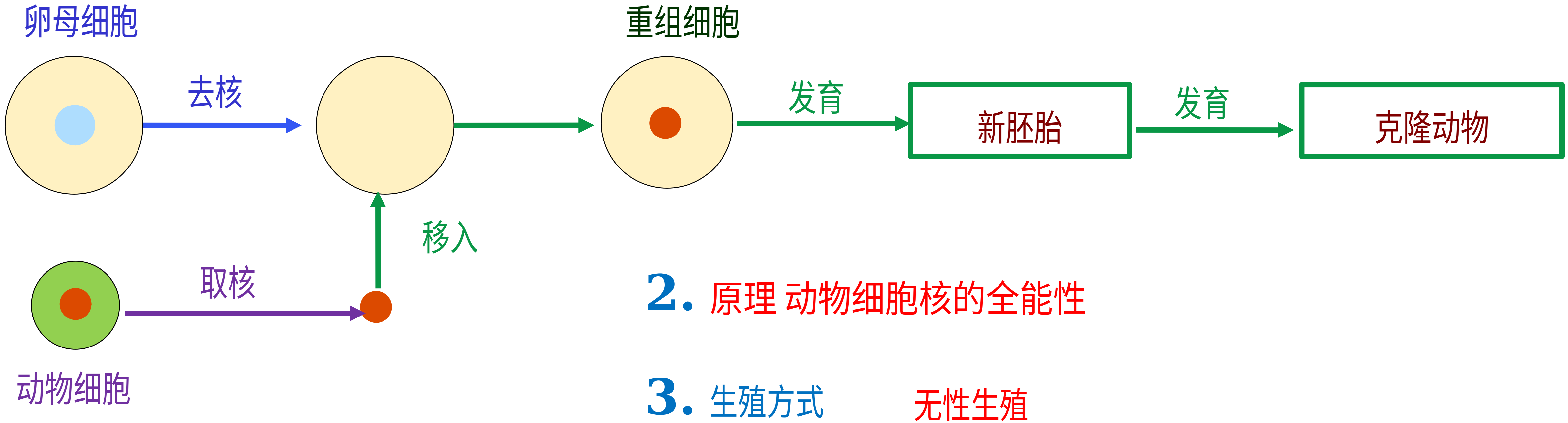




一、动物体细胞核移植技术

1. 概念

将动物的一个细胞的___细胞核___，移入___去核的卵母细胞___中，使这个重新组合的细胞发育成___新胚胎___，继而发育成___动物个体___的技术。



2. 原理 动物细胞核的全能性

3. 生殖方式 无性生殖

一、动物体细胞核移植技术

4. 哺乳动物核移植分类

种类	难易程度	原因
胚胎细胞核移植	相对容易	分化程度低，全能性容易表现
体细胞核移植	十分困难	分化程度高，全能性难表现

5. 非人灵长类动物体细胞核移植的困难原因

① 供体细胞的细胞核在去核卵母细胞中不能完全恢复其____分化____前的功能状态，这导致了____胚胎发育率低____；

② 对非人灵长类动物____胚胎____进行操作的技术尚不完善。

二、动物体细胞核移植过程

1 卵母细胞的选择

收集牛卵巢，采集卵母细胞，在体外培养到 **MII 期**（减II中期）

(1) 为什么选择 **MII** 期卵母细胞作受体细胞?

① 卵母细胞体积大，易操作;

② 卵母细胞营养物质丰富;

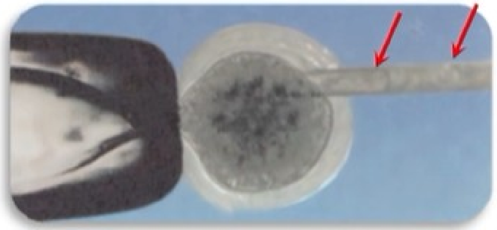
③ 细胞质中含有激发细胞核全能性表达的物质。

正常排出的卵子即处于 **MII** 期

二、动物体细胞核移植过程

2 卵母细胞去核

采集卵母细胞，
体外培养至MⅡ期



显微操作去核

★ 方法：显微操作去核

（**1**）去核原因?

保证克隆动物的核遗传物质全部来自供体细胞。

（**2**）**“**核**”**是什么?

实际是去除纺锤体 **-** 染色体复合物

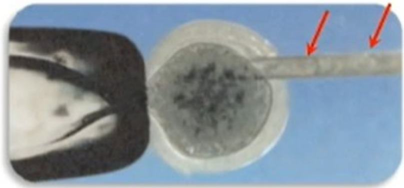
（**3**）去核方法?

也有人采用梯度离心、紫外线短时间照射和化学物质处理等方法。

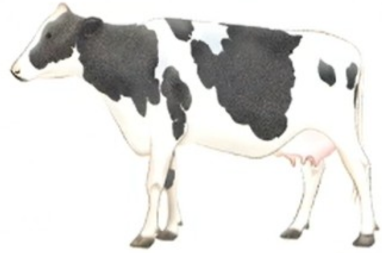
P54

没有破坏透明带去核，或使 **DNA** 变性。

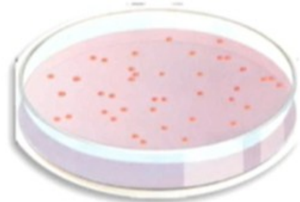
采集**卵母细胞**，
体外培养至**MⅡ期**



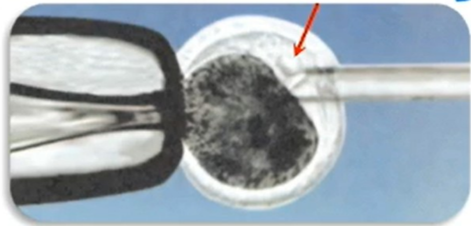
显微操作**去核**



高产奶牛（供体）



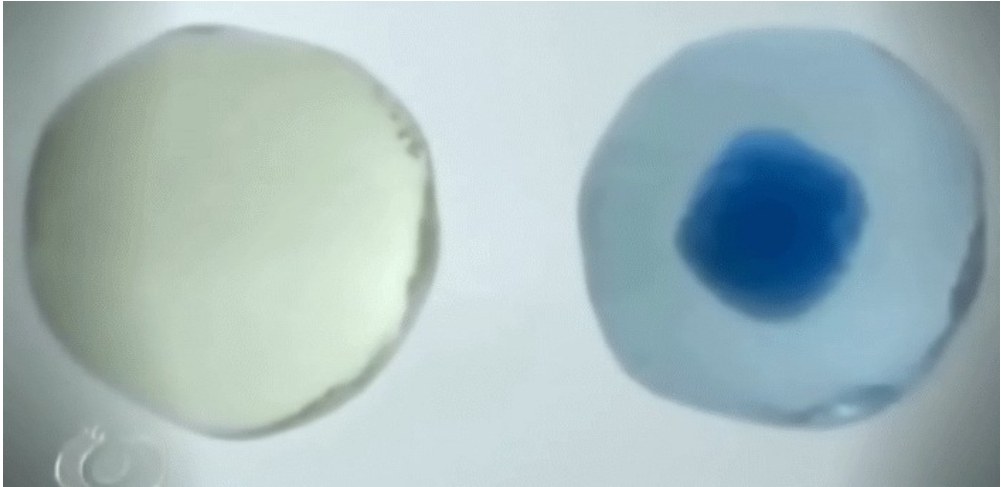
取**体细胞**培养



将供体细胞**注入**去核卵母细胞

二、动物体细胞核移植过程

（1）将整个供体细胞注入卵母细胞中
有何优点？
①保证供体细胞核不被破坏，操作方便。
②对卵母细胞损伤较小。
（2）如何使两个细胞发生融合？
电融合法，形成重构胚。
重构胚胎：人工重新构建的胚胎，具有发育成完整个体的能力。



二、动物体细胞核移植过程

（1）如何激活重构胚?

如电刺激、Ca^{2+}载体、乙醇、蛋白酶合成抑制剂等。激活重构胚，使其完成细胞分裂和发育过程。

（2）激活重构胚目的是?

使其完成细胞分裂和发育进程。

去核的卵母细胞　　供体细胞

将供体细胞注入去核的卵母细胞的透明带

↓

重构胚

↓

早期胚胎

↓

移入代孕母牛体内

↓

生出与□□□□____遗传物质基本相同的犊牛

P54 你认为用上述体细胞核移植技术培育的克隆动物，是对体细胞供体动物进行了100%复制吗？为什么？

① □□□□□□□DNA□□□□□□□□

② □□□□□□□

③ □□□□□□

P54 [illegible] iPS [illegible]

都能生成干细胞，但过程不同

①通过体细胞核移植技术可以生成带有核供体细胞遗传物质的胚胎干细胞；诱导iPS细胞需要在细胞中表达几个关键基因，将细胞逆转到类似胚胎干细胞的状态。

②体细胞核移植技术对核供体细胞有较高要求，一般情况下体细胞的分化程度越高，它重编程为干细胞的成功率就越低；可诱导成为iPS细胞的细胞来源相对广一些，研究表明成纤维细胞、B淋巴细胞、脂肪干细胞等都可以诱导成为iPS细胞。

③体细胞核移植技术涉及采集卵母细胞、去核、融合等复杂的操作；诱导iPS细胞的技术流程相对简单，可能更适合用于生产实践。

□□□□□□□□□□□□

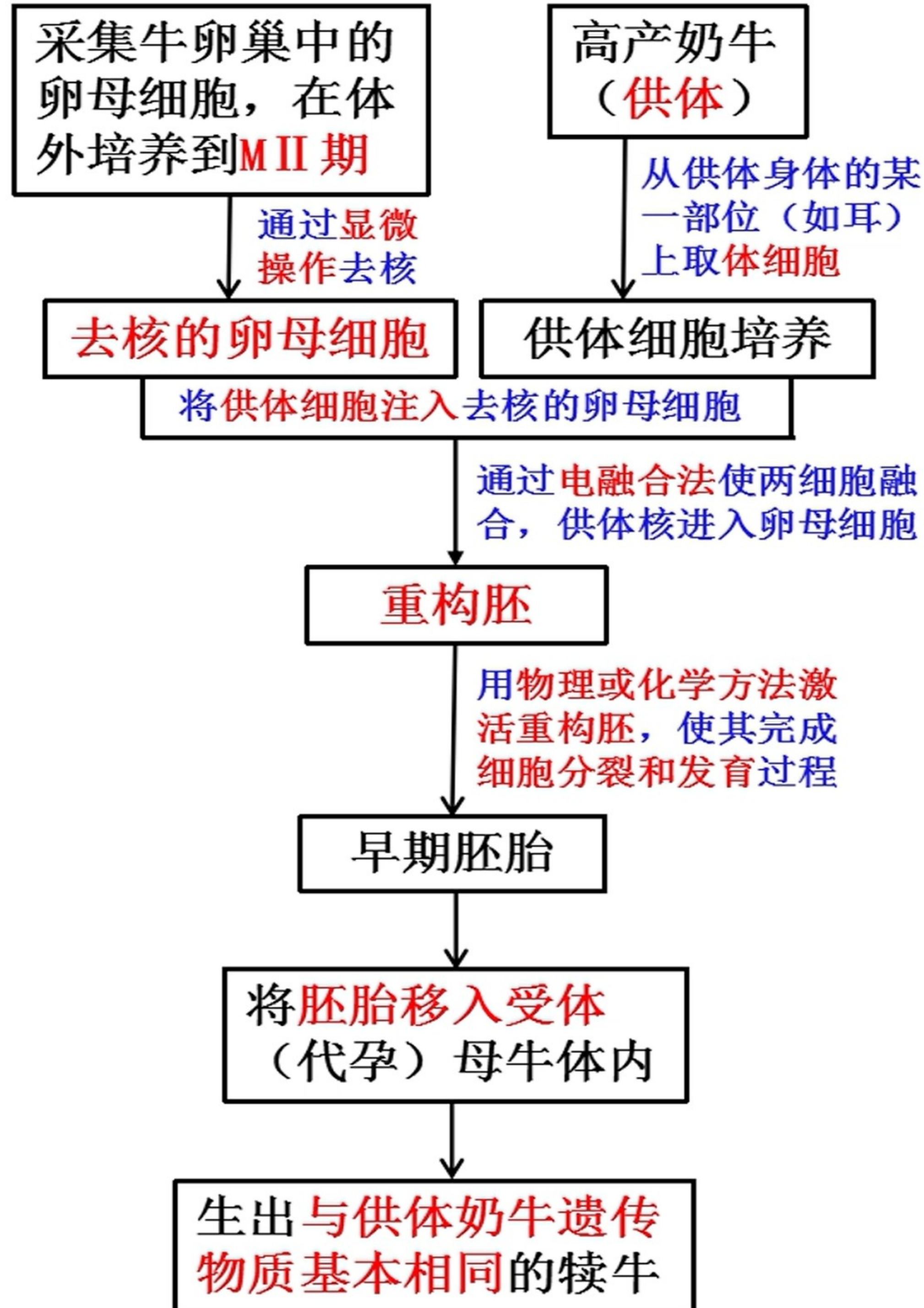
①生殖方式

无性生殖

②该过程用到哪些技术手段？

动物体细胞核移植、动物细胞培养、

动物细胞融合、胚胎移植



三、体细胞核移植技术的应用前景

（1）在畜牧生产中： 加速家畜遗传改良进程、促进优良畜群繁育

三、体细胞核移植技术的应用前景

（2）在医药卫生领域：

① 通过建立转基因体细胞系，再利用体细胞核移植技术培育的转基因克隆动物可以作为生物反应器，生产许多珍贵的医用蛋白；

[illegible]

[illegible]2[illegible]

② [illegible]

第一颗猪心脏植入人体
“人面兽心”走进现实

EPSCs用於器官移植構想
以克隆技術將改良EPSC複製至豬隻
已改良EPSC
基因編輯改造豬隻幹細胞以降低免疫排斥
取得豬的EPSC
在改良複製豬身上，培育出可供人類移植的器官，如心、肝、肺、腎等等
移植到病人身上
其他

2

③

取细胞

取核

去核的
卵母细胞

病人

核移植

重组细胞

胚胎干细胞

胰岛细胞

血细胞

心肌细胞

神经细胞

肝细胞

器官移植

三、体细胞核移植技术的应用前景

（3）在科研领域：

① 研究克隆动物可以使人类更深入地了解胚胎发育及衰老过程；

② 克隆一批遗传背景相同的动物，可以通过它们之间的对比来分析致病基因；

③ 克隆特定疾病模型的动物，还能为研究该疾病的致病机制和开发相应的药物提供帮助。

三、体细胞核移植技术的应用前景

（**4**）在保护濒危物种方面

北方白犀牛

金丝猴

白鳍豚

三、体细胞核移植技术的应用前景

（1）成功率低：

克隆胚胎移植成功率非常低，各个技术环节有待进一步改进。

（2）健康问题：

许多克隆动物表现出遗传和生理缺陷，如体型过大、异常肥胖、发育困难、脏器缺陷、免疫缺陷等。

（3）理论研究较为滞后：

需要与发育生物学、细胞生物学和分子遗传学等学科更深层次的理论研究相结合；

韦尔穆特与克隆羊多莉

克隆羊多莉真身标本

“多莉”存活不足 7 年，远低于平均寿命